

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITE DE CLERMONT-FERRAND II

(U.E.R. "SCIENCES EXACTES ET NATURELLES A DOMINANTE RECHERCHE")

POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Annie MEINIEL

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU COMPLEXE PARIETAL
EMBRYONNAIRE DES LACERTILIENS.

DIFFERENCIATION CELLULAIRE DE L'EPIPHYSE DE LACERTA VIVIPARA (JACQUIN)
EN RAPPORT AVEC LES ACTIVITES SENSORIELLE, SECRETOIRE
ET NEUROHUMORALE (BIOSYNTHESES INDOLIQUES)

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 22 OCTOBRE 1976 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. P. de PUYTORAC Président

H. LUTZ

J. ARIENS KAPPERS

J. H. VIVIEN

A. RAYNAUD

J. P. COLLIN

} Examineurs



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548618_0011

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITE DE CLERMONT-FERRAND II

(U.E.R. "SCIENCES EXACTES ET NATURELLES A DOMINANTE RECHERCHE")

POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Annie MEINIEL

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU COMPLEXE PARIETAL
EMBRYONNAIRE DES LACERTILIENS.

DIFFERENCIATION CELLULAIRE DE L'EPIPHYSE DE LACERTA VIVIPARA (JACQUIN)
EN RAPPORT AVEC LES ACTIVITES SENSORIELLE, SECRETOIRE
ET NEUROHUMORALE (BIOSYNTHESES INDOLIQUES)

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 22 OCTOBRE 1976 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

MM. P. de PUYTORAC Président

H. LUTZ

J. ARIENS KAPPERS

J. H. VIVIEN

A. RAYNAUD

J. P. COLLIN

} Examineurs

THÈSE

A L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND

PAR M. J. LACERTA

DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES

ANNEE 1911



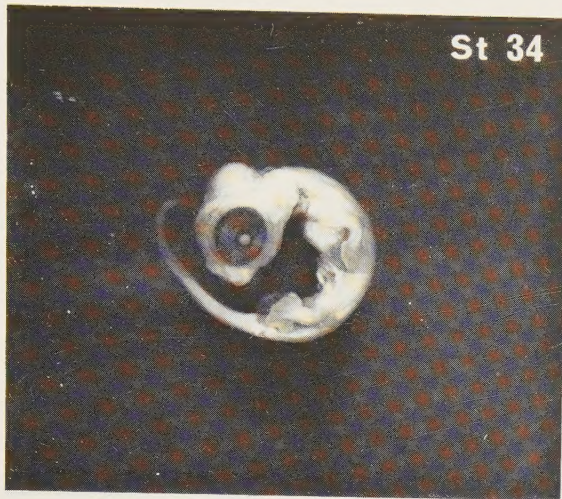
CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT
EMBRYONNAIRE DES LACERTIDES

EXPOSITIONNÉ À L'ÉTUDE DE L'ÉCOLE NATIONALE
DE MÉDECINE ET DE CHIRURGIE DE CLERMONT-FERRAND
ET À LA BIBLIOTHÈQUE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

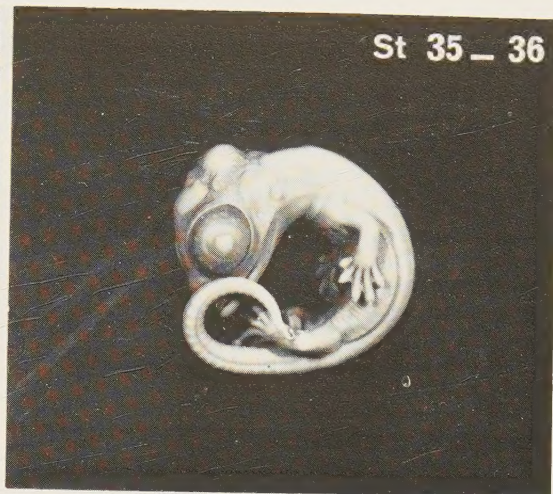
CLERMONT-FERRAND, IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

Embryons de Lacerta vivipara à différents stades du développement

St 34



St 35 - 36



St 37



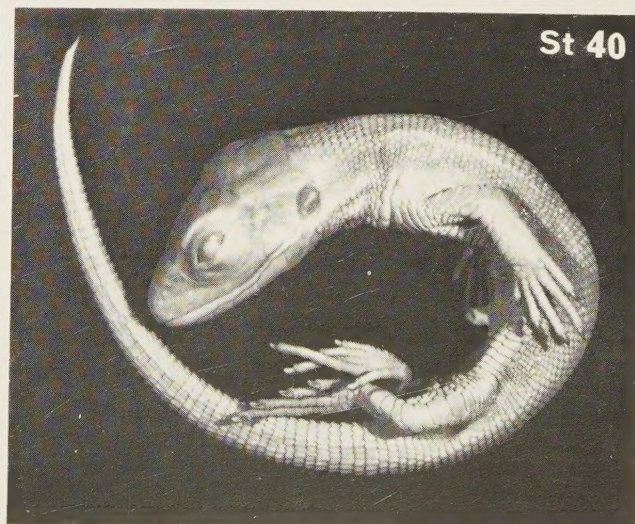
St 38



St 39



St 40



UNIVERSITE DE CLERMONT

U.E.R. des Sciences Exactes et Naturelles

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE :

DIRECTEUR (Recherche) : M. GUILLAUME Marcel

PROFESSEURS

M. RAMBAUD René	Chimie Organique
M. ROQUES Maurice	Géologie
M. LAPADU-HARGUES Pierre	Minéralogie
M. LUTZ Hubert	Biologie Animale
M. RAOULT Gaston	Optique Physique Atomique et Moléculaire
M. CHAMPAGNAT Paul	Physiologie Végétale
M. DUPLESSIS-KERGOMARD Alain	Chimie Organique
Mme. HENNEQUIN Françoise	Mathématiques Pures
Mle. BERTHET Ginette	Physique Electronique
M. LOISEAU Jean	Biologie et Physiologie Végétales
M. COMBE René	Physique du Solide et Cristallographie
M. de PUYTORAC Pierre	Zoologie
Mme. AVAN Madeleine	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M. DELOST Paul	Physiologie Animale
M. VIALARD André	Chimie Physique
M. KOHLMULLER Robert	Chimie Minérale
M. GUILLAUME Marcel	Algèbre
M. COMBE Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M. HENNEQUIN Paul	Mathématiques Appliquées
M. VINCENT Pierre	Volcanologie
M. VESSIERE Roger	Chimie Organique
M. BAILLAUD Lucien	Biologie et Physiologie Végétales

M. JOYON Louis	Biologie I.U.T. Clermont
M. PETERLONGO Jean-Marc	Géologie
M. ISABELLE Didier	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M. SOULAGE René	Géophysique
M. LEMAIRE Jacques	Chimie Physique
M. ACCARY André	Métallurgie - C.U.S.T.
M. BADRIKIAN Albert	Mathématiques Appliquées
M. MARTINET Pierre	Chimie Organique
M. ACKERMANN Patrick	Electronique automatique C.U.S.T.
M. COURDUROUX Jean-Claude	Biologie et Physiologie Végétales
M. LARPENT Jean-Paul	Microbiologie appliquée C.U.S.T.
M. THOMAS Jean	Optique Physique Atomique et Moléculaire
M. LEVY Philippe	Physique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Mle. DUCHER Suzanne	Chimie Organique
M. BATHIER Marcel	Physique du Solide et Cristallographie
M. CAPESTAN Michel	Chimie Minérale
M. FALGAS Maurice	Mathématiques Pures
M. MAISONNEUVE Jacques	Géologie
M. ROCHE Jean	Physique I.U.T. Clermont
M. LENOIR Marcel	Mathématiques Pures
M. DRAGESCO Jean	Biologie Animale
M. GRAIN Jean	Zoologie et Biologie Cellulaire
M. PRORIOI Joseph	Physique I.U.T. Montluçon
M. ROCHE Guy	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M. TEMPIER Paul	Géologie
M. DUFAURE Jean-Pierre	Cytophysologie
M. FANGUIN René	Physique I.U.T. Clermont

M. COUSSEINS Jean-Claude	Chimie Minérale
M. NIGOND Jacques	Agronomie I.U.T. Clermont
M. VELLE Georges	Psychophysiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Mme. BESSERRE Anne-Marie	Mathématiques Pures
M. JEAN Claude	Physiologie comparée et endocrinologie
M. MIGNOT Jean-Pierre	Zoologie
M. FONDEVILLE Jean-Claude	Biologie et Physiologie végétales
M. CHADEYRAS Marcel	Mathématiques Pures
M. BOILLAT Guy	Mathématiques Pures
M. CADORET Robert	Physique du Solide et cristallographie
M. BESSERRE Daniel	Spectroscopie C.U.S.T.
M. LHOMME Jean	Chimie des Substances Naturelles C.U.S.T
M. IMBAUD Jean-Pierre	Physique électronique
M. MERCIER Michel	Physique I.U.T. Montluçon
M. AUSLENDER Alfred	Mathématiques Appliquées
M. GRAMAIN Jean-Claude	Chimie et Biochimie des Substances Nat.
M. DUCATEAU Charles	Mathématiques Appliquées I.U.T. Clermont
M. DURAND Roger	Biochimie C.U.S.T.
M. HADDAD Labib	Mathématiques Pures
M. IRIGARAY Jean-Léon	Physique I.U.T. Clermont
M. BREGLIANO Jean-Claude	Génétique
M. FONTAINE Jacques	Génie Electrique C.U.S.T.
M. HUGON Lionel	Physique I.U.T. Montluçon
M. KORNPROBST Jacques	Géologie
M. LE THAN PHONG	Mathématiques Pures
M. QUERROU Michel	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M. SCHNEIDER Michel	Informatique C.U.S.T.

M. YOUNES Antoine
M. RODDIER Pierre
M. CHEVALIER Raymond
M. MOREL Jean-Pierre

Biochimie I.U.T. Clermont
Mathématiques Pures C.U.S.T.
Physique
Chimie Physique

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M. COFFI-NKETSIA Barben
M. MAISONNEUVE Georges

Mathématiques Pures
Informatique C.U.S.T.

SECRETAIRE GENERALE DE L'UNIVERSITE :

S O M M A I R E

INTRODUCTION	1
<u>CHAPITRE I</u> : MATERIEL ET METHODES	5
I - ANIMAUX	5
A - Lacerta vivipara	5
B - Lacerta viridis et Lacerta muralis	6
II - PRELEVEMENT DES EMBRYONS	6
A - Lacerta vivipara	6
B - Lacerta viridis et Lacerta muralis	6
III - METHODES DE CULTURE ET D'INJECTION DES EMBRYONS DE LACERTA VIVIPARA	7
IV - TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES .	8
A - Préparation des pièces	8
B - Microscopie photonique	8
C - Microscopie électronique	8
D - Données numériques	9
V - TECHNIQUES D'ETUDE QUALITATIVE DES MONOAMINES (MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE ULTRAVIOLETTE) .	10
A - Détection des monoamines	10
B - Microspectrofluorimétrie	11
VI - MISE EN EVIDENCE DES ACTIVITES MONOAMINE OXYDASIQUES	13
VII - RADIOAUTOGRAPHIE	14
A - Les traceurs	14
B - Techniques radioautographiques	14
VIII - TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES	17
A - La réserpine	17
B - Le nialamide	18
C - Le Ro ₄ -4602	18
D - Le DL-5-hydroxytryptophane	18
E - La sérotonine	18
<u>CHAPITRE II</u> : ORGANOGENESE DU COMPLEXE PARIETAL ..	19
I - MISE EN PLACE ET EVOLUTION DES EBAUCHES PARIETALES ET DE LEURS RELATIONS AVEC LE DIENCEPHALE	20

II - ZONES DE PROLIFERATION CELLULAIRE	26
A - Au niveau de l'oeil pariétal	26
B - Au niveau de l'épiphyse	27
III - DISCUSSION	30
A - Sur l'origine distincte de l'oeil et de l'épiphyse à partir d'ébauches contiguës.	30
B - Critères, chez Lacerta, annonçant l'intégration de l'ébauche de l'oeil pariétal à celle de l'épiphyse	33
C - Sur le problème de l'origine des organes pariétaux chez les Lacertiliens à partir d'une seule paire ou de deux paires d'ébauches bilatérales	34
 <u>CHAPITRE III : HISTOGENESE ET CYTOGENESE. LE GRADIENT DISTO-PROXIMAL DE DIFFERENCIATION CYTOLOGIQUE DE L'EPIPHYSE</u>	
I - HISTOGENESE DES DERIVES PARIETAUX	37
A - L'oeil pariétal	37
1° Rappel de sa structure chez l'adulte ..	37
2° Histogenèse de l'oeil pariétal	38
B - L'épiphyse	43
1° Rappel de sa structure chez l'adulte ..	43
2° Histogenèse de l'épiphyse	44
C - Discussion	48
II - CYTOGENESE DE L'EPIPHYSE	50
A - Différenciation cellulaire de l'épiphyse distale	51
1° Les cellules interstitielles de type épendymaire	51
2° Les cellules de la lignée sensorielle ..	54
a) Les cellules de la lignée sensorielle, 3 jours après la naissance	55
α - Les photorécepteurs typiques	55
β - Les photorécepteurs rudimentaires sécrétoires	57
b) Différenciation des cellules de la lignée sensorielle	58
α - Les segments externes	58
β - Le segment interne	61
γ - Le corps cellulaire	63
δ - Les pédicules basaux	64
3° Différenciation des neurones sensoriels.	68
4° Rapports des cellules de la lignée sensorielle avec les dendrites des neurones sensoriels	71
a) 3 jours après la naissance	71
α - Les synapses	71
β - La régression synaptique	72

b) Au cours de l'ontogenèse	72
α - Les rapports synaptiques typiques	72
β - La régression synaptique	73
5° La lumière épiphysaire	74
6° Les espaces péricapillaires	75
B - Différenciation cellulaire dans les dif- férentes régions épiphysaires	76
1° Dans l'épiphyse distale	76
2° Dans l'épiphyse moyenne	76
3° Dans l'épiphyse proximale	77
C - Discussion	77
1° Sur le potentiel photorécepteur de l'épi- physe embryonnaire de Lacerta	77
2° Critères d'une activité sécrétoire, au cours de l'ontogenèse	83
3° Pluralité des CLS au cours de l'ontogenèse et origine des PRS	84
4° Le concept de gradient disto-proximal de différenciation cytologique	89

CHAPITRE IV : METABOLISME DES INDOLAMINES AU COURS DE L'ONTOGENESE. LE GRADIENT EPIPHYSAIRE DE MATU- RATION DE CE METABOLISME

I - ETUDE DES INDOLAMINES ENDOGENES	91
A - Répartition des indolamines dans l'épiphyse	94
1° Chez l'adulte	94
2° Chez l'immature	94
3° Chez l'embryon et le nouveau-né	95
a) Lacerta vivipara	95
b) Lacerta viridis	96
c) Lacerta muralis	97
B - Identification des indolamines épiphysaires	98
C - Variations expérimentales du taux des indolamines épiphysaires	100
1° Incorporation de 5-HTP	100
2° Incorporation de 5-HT	101
3° Action du Ro ₄ -4602	101
4° Action du nialamide	102
5° Action de la réserpine	102
D - Absence d'indolamines dans l'oeil pariétal de l'embryon dans les conditions normales et expérimentales	103
E - Discussion	103
1° Identification de la sérotonine chez l'adulte et pendant la vie pré et post- natale	104
2° Captage des précurseurs indoliques chez l'embryon	105
3° Considérations sur les enzymes impliquées dans la synthèse et la dégradation de la 5-HT chez l'embryon	107

II - SITES DU METABOLISME INDOLIQUE	108
A - Etude critique des méthodes	109
1° Méthodes éprouvées pour l'injection du précurseur au cours de l'ontogenèse	111
a) Injections de 5-HTP- ³ H dans l'allantoïde	111
b) Injections de 5-HTP- ³ H dans le 3ème ventricule	111
c) Injections intrapéritonéales de 5-HTP- ³ H	113
2° Méthodes éprouvées pour l'injection com- binée des drogues et du précurseur au cours de l'ontogenèse	117
a) Avec le Ro ₄ -4602 (inhibiteur de la 5-hydro- xytryptophane décarboxylase)	117
α - Injections de Ro ₄ -4602 et de 5-HTP- ³ H dans l'allantoïde	117
β - Injections de Ro ₄ -4602 dans l'allantoïde et injections intrapéritonéales de 5-HTP- ³ H	117
γ - Injections intrapéritonéales de Ro ₄ -4602 et injections de 5-HTP- ³ H dans le 3ème ventricule	117
b) Avec le nialamide (inhibiteur des monoamine oxydases = IMAO)	121
α - Injections de nialamide et de 5-HTP- ³ H dans l'allantoïde	121
β - Injections de nialamide dans l'allantoïde et injections intrapéritonéales de 5-HTP- ³ H	121
γ - Injections de nialamide dans l'allantoïde et injections de 5-HTP- ³ H dans le 3ème ventricule	123
δ - Injections de nialamide et de 5-HTP- ³ H dans la cavité abdominale	125
3° Discussion	125
a) Méthodologie	125
b) Signification des réactions radioauto- graphiques	127
c) Choix des techniques	128
B - Etude du métabolisme indolique au cours de l'ontogenèse	129
1° Métabolisme des indolamines au stade 40 .	129
a) Dans les conditions normales	129
α - Localisation des sites d'incorporation et d'utilisation du 5-HTP- ³ H	129
β - Etude quantitative de l'évolution du taux des indolamines radioactives aux différents temps de l'expérience	132
b) Dans les conditions expérimentales	133
α - Après inhibition de l'activité 5-hydroxy- tryptophane décarboxylasique	133
β - Après inhibition des activités monoamine oxydasiques	137

c) Discussion	138
2° Métabolisme indolique au cours de l'ontogenèse	143
a) Incorporation du 5-HTP- ³ H	143
α - Répartition de la radioactivité aux différents stades embryonnaires et au 3ème jour qui suit la naissance	145
β - Etude microphotométrique de l'évolution de la concentration de radioactivité	149
b) Incorporation du 5-HTP- ³ H après action de drogues interférant sur le métabolisme indolique	150
α - Action du Ro ₄ -4602 au cours de l'ontogenèse	153
. Analyse microphotométrique	153
. Répartition de la radioactivité	153
β - Action du nialamide au cours de l'ontogenèse	159
. Analyse microphotométrique	159
. Répartition des réactions radioautographiques	159
3° Le gradient de maturation des activités monoamine oxydasiques	161
4° Détermination du type cellulaire de la lignée sensorielle impliqué dans le métabolisme indolique	164
5° Les rapports protéines-indolamines dans les PRS	167
6° Discussion	168
α - Indolamines et PRS épiphysaires	168
β - A propos des enzymes impliquées dans le métabolisme de la 5-HT, au cours de la vie embryonnaire	170
γ - Rapports indolamines-protéines dans les PRS	172
δ - Le gradient disto-proximal de maturation des biosynthèses	173

CHAPITRE V : DIFFERENCIATION DE L'INNERVATION

NORADRENERGIQUE PINEALOPETE	177
I - MISE EN EVIDENCE ET CARACTERISATION DES CATECHOLAMINES DES FIBRES NERVEUSES PINEALOPETES	178
A - Détection par la technique de Falck et Hillarp des catécholamines	178
1° Chez l'adulte et l'immature de Lacerta vivipara	178
2° Chez l'embryon et le nouveau-né de Lacerta vivipara	178
3° Chez l'embryon et le nouveau-né de Lacerta viridis	179
4° Chez l'embryon et le nouveau-né de Lacerta muralis	179

B - Variations expérimentales du taux des catécholamines	180
1° Action de la réserpine	180
2° Action du nialamide	180
3° Autofluorescence	180
C - Incorporation de noradrénaline et de dopamine tritiées au niveau des fibres pinéaloépètes	181
1° Résultats obtenus chez l'immature	181
2° Résultats obtenus chez l'embryon	182
D - Identification des catécholamines des fibres nerveuses pinéaloépètes	182
II - ULTRASTRUCTURE DES TERMINAISONS NORADRE- NERGIQUES PINEALOPETES	185
A - Trois jours après la naissance	185
B - Au cours de l'ontogénèse	186
III - DISCUSSION	187
CONCLUSIONS - RESUME	191
BIBLIOGRAPHIE	201

AVANT - PROPOS

Le présent travail a été réalisé sous la direction de Monsieur le Professeur H. LUTZ. Il nous est particulièrement agréable de témoigner ici, à notre Maître, l'expression de notre bien vive et respectueuse reconnaissance pour son accueil chaleureux, au sein de son Laboratoire. La confiance qu'il a toujours manifestée à notre égard, ainsi que ses conseils, ses encouragements et l'aide matérielle dont il nous a fait bénéficier, ont permis de mener à bien ces recherches. Que Monsieur Le Professeur LUTZ, veuille bien trouver ici, ainsi que Madame LUTZ, pour sa gentillesse et sa bienveillance, l'expression de notre dévouée gratitude.

Monsieur Le Professeur P. De PUYTORAC, dont nous fûmes l'élève tout au long de nos études supérieures, nous honore en ayant accepté la présidence de ce jury de thèse. Nous ne saurions oublier qu'une grande partie de ce travail a été réalisée dans le service de Microscopie électronique qu'il dirige. Que Monsieur Le Professeur P. De PUYTORAC, veuille bien trouver ici l'expression de notre très sincère reconnaissance.

Monsieur Le Professeur J. ARIËNS KAPPERS, Directeur du "Central Institute for Brain Research" à Amsterdam, nous a fait le grand honneur d'effectuer un long déplacement pour venir se joindre à notre jury de thèse. L'intérêt que Monsieur le Professeur ARIËNS KAPPERS a manifesté pour ce travail, au travers de la lecture de plusieurs manuscrits que nous lui avons soumis, nous a été d'un grand réconfort. Que Monsieur Le Professeur J. ARIËNS KAPPERS veuille bien agréer l'expression de nos plus vifs remerciements et de notre grande admiration.

Monsieur Le Professeur J.H. VIVIEN, Directeur d'un Institut où plusieurs chercheurs développent également des recherches sur la pinéale des Reptiles, a bien voulu accepter de juger ce mémoire de thèse. Que Monsieur Le Professeur Vivien, soit assuré de notre profonde reconnaissance.

Monsieur Le Professeur RAYNAUD a bien voulu nous parrainer au C.N.R.S., depuis 1972. Au travers de divers entretiens qu'il nous a accordés, il nous a fait partager son enthousiasme pour les problèmes d'embryologie inhérents au matériel reptilien. Nous voudrions aujourd'hui lui exprimer nos très respectueux remerciements pour avoir accepté de participer au jury chargé d'examiner ce travail.

Lors de notre entrée au Laboratoire de Biologie animale, nous avons bénéficié de l'expérience acquise par Monsieur Le Professeur J.P. COLLIN sur l'épiphyse des Vertébrés. Depuis lors, il a consacré beaucoup de temps à nous guider et n'a cessé de nous encourager et nous aider dans notre expérimentation. Que ce travail, qui doit tant à son exigeante amitié, soit le témoignage de notre vive reconnaissance et de notre déférente gratitude. Nous tenons à lui exprimer ainsi qu'à Madame COLLIN, nos plus vifs remerciements.

Nous n'oublions pas que nous avons pu amorcer nos recherches grâce à un poste d'Assistante qui nous a été confié par Monsieur Le professeur TURCHINI, titulaire de la chaire d'Histologie et embryologie à la Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand. Nous tenons à assurer Monsieur Le Professeur TURCHINI de notre attachement.

Diverses techniques utilisées dans ce travail n'auraient pu être mises en oeuvre sans l'aide de plusieurs Laboratoires. Qu'il nous soit permis de remercier plus particulièrement Monsieur Le Docteur HARTWIG (Anatomischer Institut der Justus Liebig Universität Gießen, Directeur Professeur Dr A. OKSCHE) pour sa contribution à l'analyse microspectrofluorimétrique, Monsieur Le Docteur CALAS

(Laboratoire de Physiologie animale, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, Directeur Professeur ASSENMACHER) pour nous avoir enseigné la technique radioautographique et Madame Le Docteur ROUX (Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine A, Nancy, Directeur Professeur LEGAIT) pour son initiation aux méthodes radioautographiques quantitatives. Que Madame ROUX, Messieurs CALAS et HARTWIG, veuillent bien trouver ici l'expression de notre sincère gratitude.

Ce travail a pu être réalisé grâce à la collaboration technique de Mesdames BENAY, VERNEREY et GUERIN et à celle de Monsieur MATHIEU. Nous remercions tout particulièrement Madame BENAY, pour le dynamisme et le soin qu'elle a apportés dans la présentation de ce mémoire.

INTRODUCTION

L'*épiphyse cérébrale* (ou *organe pinéal* ou encore *pinéale*) est une formation épidiencéphalique que l'on retrouve dans tous les groupes de Vertébrés, à l'exception cependant de quelques espèces (voir STUDNÍČKA, 1905). Chez les Vertébrés inférieurs, l'*épiphyse* est fréquemment accompagnée par un second dérivé pariétal respectivement dénommé *organe parapinéal*, chez les Pétromyzontoïdes et les Téléostéens, *organe frontal*, chez les Anoures et *oeil pariétal* (ou *3ème oeil*) chez les Rhyncocéphales et les Lacertiliens. Les deux organes constituent alors un *complexe pariétal*.

Comme en témoigne la nomenclature variée de ces organes, le problème de leurs homologies n'est pas tranché. On admet généralement, à l'heure actuelle, que l'organe parapinéal des Pétromyzontoïdes et des Poissons est l'homologue de l'oeil pariétal des Reptiles. Par contre, chez les Anoures, l'organe frontal représenterait un diverticule dorsal de l'*épiphyse*.

Pour résoudre ce problème, il est nécessaire d'entreprendre des études embryologiques combinées, descriptives et expérimentales, afin d'élucider l'origine et le devenir de ces dérivés diencéphaliques. Chez les Reptiles, où il n'existe que des études descriptives, le plus souvent fragmentaires, nous nous proposons d'apporter une contribution relative à l'origine du 3ème oeil et de l'*épiphyse*. Ces résultats, ultérieurement confrontés à des données analogues chez les Anamniotes, devraient permettre de résoudre le problème des homologies entre organes pariétaux.

Sur le plan cytophysiologique, l'oeil pariétal est un organe typiquement photorécepteur alors que l'organe frontal et l'organe parapinéal montrent des signes de rudimentation sensorielle plus ou moins accentués (revue d'EAKIN, 1973).

Quant à l'épiphyse des Vertébrés, elle subit au cours de la phylogenèse d'importantes transformations. Celles-ci, suspectées dès le début de ce siècle par STUDNIČKA (1905) puis par BARGMAN (1943), ont reçu avec l'avènement des techniques de microscopie électronique des preuves remarquables (revues de COLLIN, 1969a, 1971 ; KAPPERS, 1969, 1971 ; OKSCHE, 1971).

Organe photorécepteur bien différencié chez les Pétromyzontoïdes, l'épiphyse possède des cellules photoréceptrices typiques et un système d'innervation sensorielle bien développé qui transmet le message photique au système nerveux central. La régression du potentiel photorécepteur de l'épiphyse intervient par suite d'une rudimentation des pôles récepteurs et transmetteurs des cellules sensorielles. Apparaît alors, chez les Sauropsidés (et peut-être déjà chez certains Anamniotes), le photorécepteur rudimentaire sécrétoire ou PRS. On assiste également à une régression quantitative de l'innervation sensorielle. Chez les Ophidiens et les Mammifères, où l'épiphyse est typiquement glandulaire, les pinéalocytes sont des cellules d'origine sensorielle où la bipolarité n'est plus évidente. L'innervation sensorielle semble faire défaut.

Sur la base de ces observations fut alors établi le concept de "lignée de cellules sensorielles" (COLLIN, 1969a, 1971) qui regroupe des types cellulaires homologues (COLLIN, 1976) : photorécepteur, photorécepteur rudimentaire sécrétoire, pinéalocyte et leurs intermédiaires. Cependant, le concept de CLS établi uniquement à partir de recherches phylogénétiques nécessite des preuves embryologiques.

Si l'on considère que l'ontogenèse peut retracer la phylogenèse, l'étude de la différenciation de l'épiphyse devrait permettre d'observer directement certaines phases de sa rudimentation sensorielle. Chez les Lacertiliens,

qui nous intéressent plus particulièrement dans ce travail, et en fonction de leur position dans le groupe des Vertébrés, on peut espérer apporter des preuves en faveur de l'origine photoréceptrice des PRS.

Selon COLLIN (1969a, 1971, 1976), le rôle de l'organe pinéal dépend de l'état de différenciation et de rudimentation du photorécepteur (considéré comme le type cellulaire primordial et fondamental pour définir la fonction d'une épiphyse donnée). En relation avec la rudimentation, le message nerveux de type sensoriel cède peu à peu la place au message neurohormonal (COLLIN, 1976).

On peut penser qu'il existe, au cours des phases ontogénétiques, des modifications dans l'orientation fonctionnelle de l'épiphyse qui retracent l'évolution connue au cours de la phylogenèse.

En conséquence, l'étude du rôle éventuel d'un dérivé pariétal, au cours de l'ontogenèse (et plus particulièrement, ici, de l'épiphyse), débute par celle de la différenciation structurale et fonctionnelle de ses constituants cellulaires. Nous prenons donc en considération le problème des modalités de différenciation et de régression des structures de type sensoriel. Néanmoins, en relation avec la vie intra-utérine, une photosensibilité épiphysaire est vraisemblablement à exclure. Nous abordons également le problème de la mise en place, au cours de l'ontogenèse, d'éventuelles biosynthèses indoliques en rapport avec la rudimentation (voir antérieurement).

Pour une telle étude, l'embryon de Lacerta vivipara, nous a paru un matériel particulièrement favorable :

- 1 - l'oeil pariétal, présent chez cette espèce, va servir de référence pour comparer l'évolution de l'épiphyse à celle d'un organe typiquement photorécepteur (EAKIN, 1973).

- 2 - l'existence d'une pluralité des cellules de la lignée sensorielle, dans l'épiphyse de l'adulte (COLLIN, 1968b), va permettre de suivre simultanément la différenciation de photorécepteurs typiques et de photorécepteurs rudimentaires.
- 3 - une activité sécrétoire golgienne, démontrée pour la première fois dans les pinéalocytes de la Couleuvre, (VIVIEN, 1964, 1965), caractérise les PRS et facilite la distinction entre les deux types de CLS.
- 4 - la présence d'un "pool" indolique dans l'épiphyse de l'adulte, facilement identifiable par la technique de FALCK et HILLARP (QUAY, JONGKIND et KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1968c) et les données récentes sur le métabolisme indolique (MEINIEL, COLLIN et CALAS, 1972 ; COLLIN et MEINIEL, 1973a,b), permettent d'envisager dans des conditions favorables la recherche d'éventuelles biosynthèses indoliques au cours de l'ontogenèse.

En résumé, nous reconsidérons le problème de l'origine et de l'évolution des ébauches pariétales chez Lacerta vivipara (épiphyse et oeil pariétal), puis nous suivons l'évolution ultrastructurale des différents types cellulaires épiphysaires en apportant une attention toute particulière aux critères cytologiques permettant d'élucider l'orientation fonctionnelle de l'épiphyse embryonnaire de Lacerta.

Nous abordons le problème du métabolisme indolique dans le complexe pariétal embryonnaire, en relation (pour l'épiphyse) avec des sécrétions de nature protéique et/ou glycoprotéique.

Nous envisageons enfin, l'état de différenciation de l'innervation pinéalo-pète noradrénergique et son rôle éventuel dans le contrôle des biosynthèses indoliques.

Comme nous le verrons, il existe de grandes différences, malgré la contiguïté des ébauches et des structures très proches, dans l'orientation fonctionnelle des deux dérivés diencephaliques.

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

I - ANIMAUX

Notre étude a porté principalement sur l'embryon de Lacerta vivipara Jacquin. Néanmoins, dans un but comparatif, nous avons utilisé des Lézards adultes de sexe ♂, des immatures et des nouveau-nés de Lacerta vivipara, ainsi que des embryons et des nouveau-nés de Lacerta viridis Laurenti et de Lacerta muralis Laurenti.

A - Lacerta vivipara

Environ cinq cents femelles gestantes de Lacerta vivipara sont capturées dans les environs de Clermont-Ferrand, à une altitude de 800 à 1000 m, entre le 1er et le 30 juillet des années 1970 à 1975. Elles sont élevées (au maximum durant une semaine) dans des cages grillagées, placées dans une pièce isolée, exposée au sud et près d'une fenêtre entr'ouverte. Nous avons pris soin de placer, au fond des cages, la flore avec la terre provenant du lieu de capture, lesquelles sont humidifiées matin et soir. La nourriture des animaux, fournie ad libitum, est composée d'eau, d'asticots et de vers de terre.

Une vingtaine de Lézards adultes de sexe ♂ et une dizaine d'immatures (longueur extrémité tête-cloaque 2 à 2,5 cm) sont récoltés dans les mêmes sites, pendant les mois de juillet ou de septembre. Ils sont élevés dans les mêmes conditions que les femelles.

Afin d'obtenir des nouveau-nés, certaines femelles gestantes sont isolées vers le 20 juillet dans des cuves en verre dont le fond est tapissé de mousse de bruyère. Immédiatement après la ponte qui intervient, selon les années, entre le 20 juillet et le 5 août, les femelles sont replacées dans la cage. Dans les minutes qui suivent, les embryons se dégagent de l'oeuf. Les nouveau-nés sont élevés jusqu'au 3e jour qui suit l'éclosion.

B - Lacerta viridis et Lacerta muralis

Quatre vingts embryons ou nouveau-nés ont également été utilisés. Les oeufs sont récoltés dans un bac à sable (placé dans un jardin), à 15 cm de profondeur, au mois de juin 1975. Ils sont déposés dans une cuvette contenant le même sable, journellement humidifié. L'ensemble est placé dans une étuve, réglée à une température constante de 26°C.

II - PRELEVEMENT DES EMBRYONS

A - Lacerta vivipara

Après décapitation, la partie ventrale des femelles gestantes est badigeonnée à l'éther-alcool, puis incisée afin de prélever les utérus qui sont alors rapidement plongés dans du liquide de Ringer. A l'aide de pinces fines, les oeufs sont soigneusement dégagés des utérus. Chez une même femelle, les embryons, au nombre de 3 à 12, sont généralement à un même stade de développement, lequel est déterminé grâce à la table chronologique de Lacerta vivipara (DUFAURE et HUBERT, 1961).

B - Lacerta viridis et Lacerta muralis

Les oeufs sont rincés à l'eau bidistillée puis ouverts. Le stade embryonnaire est déterminé grâce à la table chronologique

de Lacerta viridis et muralis (DHOUAILLY et SAXOD, 1974).
Néanmoins, afin de pouvoir confronter plus aisément les résultats obtenus chez les diverses espèces nous donnons le stade correspondant à celui de la sériation de DUFAURE et HUBERT (1961).

III - METHODES DE CULTURE ET D'INJECTION DES EMBRYONS DE LACERTA VIVIPARA

L'application de traitements pharmacologiques et l'injection de précurseurs variés, chez l'embryon de Lacerta vivipara, requièrent l'isolement des oeufs et leur mise en culture.

La technique utilisée s'inspire de celle préconisée par RAYNAUD (1959) et modifiée par DUFAURE (1966). Les oeufs sont déposés dans des coupelles stérilisées, contenant quelques ml d'albumine d'oeuf de Poule.

Les injections sont réalisées à l'aide de microseringues HAMILTON. Les drogues et/ou les précurseurs radioactifs ou froids sont inoculés, soit dans l'allantoïde, soit dans la région du 3ème ventricule, soit encore dans la cavité abdominale. Afin de réaliser, avec le maximum de précision, les deux derniers types d'injections nous pratiquons, à l'aide de pinces fines stériles, une petite fenêtre, dans les membranes protectrices de l'oeuf, en regard de la tête ou du tronc des embryons. Nous respectons au maximum le réseau vasculaire.

Les coupelles, fermées à l'aide d'un couvercle en verre (permettant éventuellement un contrôle) maintenu en place par une bande de "Parafilm" (American Company), sont déposées à l'obscurité dans un incubateur, réglé à une température constante de 25°C.

IV - TECHNIQUES HISTOLOGIQUES ET CYTOLOGIQUES

A - Préparation des pièces

Les embryons et les nouveau-nés de Lacerta vivipara sont sacrifiés par décapitation. L'épiphyse et l'oeil pariétal, laissés en place au niveau du cerveau, sont rapidement prélevés, puis fixés par le glutardialdéhyde (Fluka) à 2% dans le tampon Sörensen (0.1M, pH 7.2-7.4) pendant 30 mn.

Pour la mise en évidence des cellules ganglionnaires intra-épithéliales, sur coupes semi-fines colorées au bleu de toluidine basique, nous avons prolongé le temps de fixation au glutardialdéhyde jusqu'à 12 heures, afin d'augmenter les contrastes.

Après rinçage dans le tampon phosphate, les pièces sont post-fixées au tétroxyde d'osmium à 1% durant 1 H, puis deshydratées à l'alcool et incluses dans l'Epon 812 selon LUFT (1961). Afin d'obtenir des orientations frontale ou sagittale du complexe pariétal, nous utilisons des moules plats (Fullam). Les blocs polymérisés sont ensuite débités en coupes sur un ultra-microtome Reichert OMU₂.

B - Microscopie photonique

Des coupes semi-fines de 1 à 3 μ m d'épaisseur sont déposées sur des lames de verre soigneusement dégraissées, puis colorées, sur une platine chaude (60°C), par une solution à 1% de bleu de toluidine basique.

Les préparations sont ensuite montées dans le "Permout" (Fisher).

C - Microscopie électronique

Des coupes ultrafines, obtenues à l'aide de couteaux de verre ou de diamant (Du Pont de Nemours), sont recueillies sur des grilles électrolytiques. Un traitement à l'acétate d'uranyle

à saturation dans l'eau bidistillée (WATSON, 1958) pendant une nuit et au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963) pendant 20 mn permet de contraster les préparations.

Les grilles, recouvertes d'un mince film de carbone, sont observées aux microscopes électroniques Philips EM 300 (Département de Microscopie électronique de la Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand) ou Siemens 1 et 1A (Laboratoire de Zoologie et Biologie cellulaire de l'Université de Clermont).

D - Données numériques

1° - Quantification des grains denses de sécrétion

L'étude quantitative des grains denses de sécrétion, au cours de l'ontogenèse (stades 33 à 40), a été effectuée à partir d'électronographies représentant des pédicules basaux de cellules de type sensoriel localisées dans l'épiphyse distale (proche de l'oeil pariétal).

Pour chaque cliché, les contours des pédicules basaux (zones situées sous le noyau) sont reproduits sur un papier à décalquer d'épaisseur homogène puis découpés. La surface cellulaire des territoires envisagés est déterminée par pesée, en comparant le poids des échantillons à celui d'un étalon de $10 \mu\text{m}^2$ de surface. Les grains denses sont dénombrés dans l'ensemble de la surface. On rapporte ensuite leur nombre à l'unité de surface choisie ($100 \mu\text{m}^2$).

A chaque stade embryonnaire (32 à 40) et 3 jours après la naissance, cette opération est reconduite sur 10 électronographies. Les résultats numériques, nombre de grains denses/ $100 \mu\text{m}^2$ de pédicules basaux, sont présentés sous forme de moyennes accompagnées de l'écart type.

2° - Mesure des grains denses de sécrétion

A chaque stade embryonnaire (33 à 40), nous rapportons une dimension moyenne du diamètre des grains denses, à partir de mesures effectuées sur une centaine d'échantillons pris au

hasard dans les pédicules basaux des cellules de type sensoriel appartenant à l'épiphyse distale. Par ailleurs, nous relatons les valeurs minimum et maximum du diamètre des grains denses.

V - TECHNIQUES D'ETUDE QUALITATIVE DES MONOAMINES (MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE ULTRAVIOLETTE)

A - Détection des monoamines

Les catécholamines et indolamines sont mises en évidence, chez l'adulte et l'immature de Lacerta vivipara ainsi que chez les embryons et les nouveau-nés de Lacerta vivipara, muralis et viridis, par la technique de FALCK et HILLARP (FALCK et al., 1962 ; FALCK et OWMAN, 1965 ; CORRODI et JONSSON, 1967), modifiée par LEONARDELLI et HERMAND (1970).

Après décapitation, les encéphales, rapidement prélevés, sont plongés pendant 15 secondes dans le propane ou dans l'isopentane préalablement refroidi par l'azote liquide. Ils sont ensuite immergés dans ce dernier pendant 5 à 10 minutes.

Les pièces, ainsi congelées, sont alors lyophilisées à l'aide d'un "Speedivac-Pearse Tissue Dryer, Model 1" à une température de -40°C durant 24 à 48h. Elles sont lentement ramenées à la température ambiante, puis mises en présence, de vapeurs de paraformaldéhyde (Merck) durant 1h30 à 2h à une température de 80°C. Après ce traitement, permettant la condensation des monoamines, les pièces sont incluses sous vide dans la paraffine et débitées en coupes de 10 µm d'épaisseur. Ces dernières sont montées dans "l'Entellan" (Merck) avant d'être observées au microscope de fluorescence Ortholux-Orthomat Leitz, équipé de filtres BG₁₂ et K₅₃₀.

Certaines coupes sont montées dans la paraffine liquide (Bayol F. Serva) entre deux lamelles de Quartz (Herasil I, quartzschmelze Heraeus Schott) afin d'être analysées au microspectrophotomètre.

B - Microspectrofluorimétrie

L'appareil utilisé (Fig. 1) est un microspectrophotomètre MS 1206 (Beckman), modifié par H.G. HARTWIG (Centre d'Anatomie et de Biologie cellulaire de Giessen, Allemagne) avec le concours de la firme Beckman. L'éclairage de l'appareil est basé sur le principe de Köhler avec un faisceau carré réglable, de 0,25 à 9,0 μm de côté (VS ; Fig. 1).

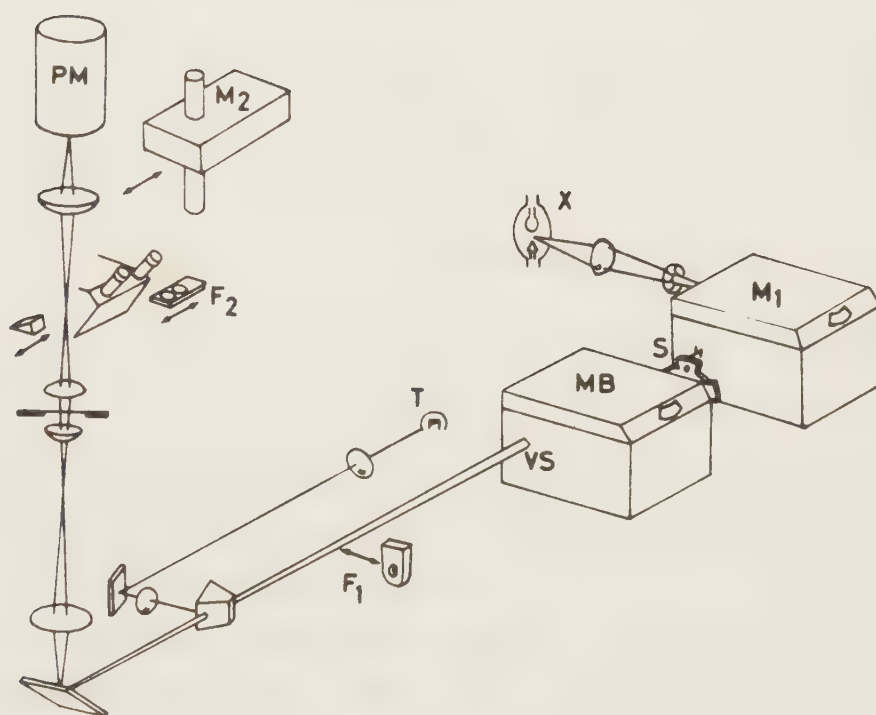


Fig. 1. Représentation schématique du système optique du microspectrophotomètre MS 1206.

F 1 position du filtre d'excitation dans le cas des mesures d'émission ; F 2 position des filtres d'arrêt ; M 1 monochromateur à réseau, utilisé dans les mesures d'excitation. Celui-ci peut être enlevé, dans le cas de mesures d'émission, pour être remplacé par un second boîtier à miroir ; M 2 monochromateur à prisme, introduit dans le cas de mesures d'émission ; M B boîtier à miroir ; P M photomultiplicateur ; S modulateur de lumière ("Shopper") ; T lampe à filament de tungstène ; V S diaphragme variable ; X lampe au Xénon.

On travaille avec une lampe au xénon à haute pression (Osram, XBO 450 X ; Fig. 1). Une seconde source lumineuse, obtenue à l'aide d'une lampe au tungstène (T ; Fig. 1), permet d'utiliser l'éclairage en contraste de phase dans tout le champ. Pour les mesures, la préparation est éclairée à l'aide d'un condenseur formé de deux combinaisons de lentilles, Zeiss Ultrafluar 100/0,95 et Zeiss K 10 : 1 UV. Elle est observée grâce à un microscope équipé d'un objectif Zeiss Neofluar 40/0,75 et d'un oculaire Zeiss K 10 : 1 UV. Les mesures sont effectuées à une vitesse de balayage de 100 ou 200 mμ par minute avec un faisceau carré de 1 à 5 μm de côté, selon la taille de la structure.

Tous les spectres sont corrigés en tenant compte des données de l'appareil et exprimés en nombre relatif de quanta, en fonction de la longueur d'onde.

1° - Mesures d'émission

Au lieu du monochromateur à réseau (M 1 ; Fig. 1), on introduit un boîtier à miroir avec la combinaison suivante comme filtre d'excitation (F 1 ; Fig. 1) : UG 1 de 4 mm et BG 38 de 3 mm (Schott et Gen.). Au cours des mesures, on choisit généralement un filtre d'arrêt (F 2 ; Fig. 1) K 430 ou K 450 (Schott et Gen.). L'analyse spectrale de la lumière réémise est effectuée, à l'aide d'un monochromateur à prisme (M 2 ; Fig. 1) QPM 30 (Schoeffel GMBH), par un photomultiplicateur enregistreur (P M ; Fig. 1), avec une largeur de fente de 0,5 mm.

Les spectres d'émission sont établis après avoir introduit un facteur de correction, pour chaque longueur d'onde. Ces facteurs sont obtenus en calibrant la sensibilité de l'appareil, avec une lampe à filament de tungstène de caractéristiques spectrales connues.

2° - Mesures d'excitation

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un monochromateur

(GM 1139, Beckman) à réseau (M 1 ; Fig. 1), avec une largeur de bande de 10 mμ. Au dessous de 391 mμ, un filtre permet de séparer automatiquement les spectres d'excitation d'ordres différents. Pour éliminer la lumière de diffraction dans la partie visible du spectre d'excitation (392-500 mμ), un filtre BG 12 de 4 mm (Schott et Gen.) est placé en position F 1 (Fig. 1). Les filtres K 515 et K 530 (Schott et Gen.), sont introduits, comme filtres d'arrêt, en position F 2 (Fig. 1).

La correction du spectre d'excitation s'effectue grâce à un compteur de quanta, construit selon le principe suggéré par RITZEN (1967). Le calibrage de la source lumineuse, tenant compte de l'influence du monochromateur et du système optique, s'obtient après chaque série de mesures, en remplaçant l'objet à analyser par une cuve en quartz, contenant de la rhodamine B à 3°/∞ dans de l'éthylène-glycol. Les mesures sont effectuées selon les données de BJÖRKLUND et al. (1971).

VI - MISE EN EVIDENCE DES ACTIVITES MONOAMINE OXYDASIQUES

L'encéphale des embryons est rapidement prélevé, congelé puis débité en coupes de 20 μm d'épaisseur grâce à un cryostat "Dittes-Duspira de Linde" (Heidelberg).

Les coupes sont déposées sur des lames de verre avant d'être incubées durant 1h30 à 2 h dans le milieu de GLENNER et al. (1957) avec la tryptamine (Sigma) comme substrat, conformément au protocole préconisé par GABE (1968). Les coupes sont ensuite fixées au formol 10% puis, après rinçage, montées dans la gélatine glycérinée de Kaiser en respectant les recommandations formulées par PEARSE (1960) et par COUTEAUX et al. (1965).

Pour tester la spécificité de nos réactions histo-enzymologiques, nous avons injecté un inhibiteur des monoamine oxydases (nialamide-Pfizer Clin) à raison de 200 mg/kg, 15 à 18 heures avant le sacrifice. Les coupes réalisées à partir

du cerveau des individus ainsi traités, sont placées dans les mêmes conditions que celles provenant des animaux non drogués.

VII - RADIOAUTOGRAPHIE

A - Les traceurs

Les produits, ci-dessous énumérés avec leurs caractéristiques essentielles, ont été utilisés :

- DL 5-hydroxytryptophane-³H (marquage général) (DL-5-HTP³H), en provenance du Radiochemical Centre, Amersham (Angleterre).

Activité spécifique (AS) : 2,3 Ci/mMole en 1971
: 4,2 Ci/mMole en 1972
: 6,9 Ci/mMole en 1973
: 8,2 Ci/mMole en 1975

- Dopamine -1,2-³H Hydrochloride, en provenance du Radiochemical Centre, Amersham (Angleterre).

AS : 3,8 Ci/mMole

- DL-Noradrénaline-7-³H en provenance de l'IRE c/o SCK-CEN (Belgique)

AS : 3 Ci/mMole

- Thymidine-6-³H en provenance du CEA (France)

AS : 26 Ci/mMole en 1974
: 22 Ci/mMole en 1975

Le mode d'injection, les doses de traceurs ainsi que les conditions expérimentales seront précisés pour chaque série au cours de l'exposé des résultats.

B - Techniques radioautographiques

Les embryons sont sacrifiés par décapitation. Le complexe pariétal, laissé en place au niveau du cerveau, est rapidement prélevé et fixé selon les techniques exposées précédemment (voir paragraphe IV de ce chapitre).

Les pièces sont orientées très soigneusement de façon à obtenir dans tous les cas des coupes sagittales ou parasagittales du cerveau.

1° - Microscopie photonique

Des coupes de 0,5 ou 1 μ m d'épaisseur sont placées sur des lames de verre et radioautographiées selon la technique de LARRA et DROZ (1970) avec l'émulsion nucléaire Ilford K₅ diluée à 1/2. Après des expositions de 28 à 35 jours, dans des boîtes de Clay-Adams, en présence de di-phosphore pentoxyde (Merck), les radioautographies sont développées au D19b Kodak (4mn à 18°C), rincées, puis fixées au thiosulfate de sodium à 30%.

Pour chaque série expérimentale, 2 lots de coupes subissent des traitements absolument identiques.

Les coupes du 1er lot sont colorées sur une platine chauffante, par le bleu de toluidine basique, et montées dans le Permunt avant d'être observées et photographiées au microscope photonique Orthoplan Leitz.

Les coupes du 2ème lot, non colorées et non montées, sont destinées à l'étude microphotométrique.

2° - Mesures microphotométriques

Pour nos études quantitatives relatives, diverses précautions ont été prises. Elles se rapportent essentiellement aux conditions expérimentales qui seront précisées lors de l'exposé de nos résultats. Par ailleurs, les exigences techniques préconisées par DROZ (1967), YOUNG et DROZ (1968), GRANBOULAN (1965) ont été respectées ; elles concernent :

- l'homogénéité de l'épaisseur des coupes semi-fines (0,5 μ m) pour chaque série expérimentale,
- les conditions de coulage de l'émulsion, d'exposition et de développement, identiques pour chaque série.

Le degré de noircissement des pellicules a été évalué à la suite de mesures réalisées à l'aide des microphotomètres MPV I Leitz (collaboration de Madame le Docteur ROUX, Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine A, Nancy) ou MPV II Leitz (Laboratoire de Biologie animale de l'Université de Clermont) en lumière réfléchie.

Pour chaque épiphyse, 30 mesures réparties sur 3 coupes, ont été réalisées avec un champ de mesure constant pour chaque série expérimentale. Considérant les variations disto-proximales de la répartition de la radioactivité au sein de l'épiphyse, pour un stade donné du développement, il est important d'effectuer les mesures dans les différentes régions de l'organe (épiphyse distale, moyenne et proximale). D'autre part, l'intensité des réactions radioautographiques étant plus forte à la base de l'épithélium épiphysaire (près de la lamelle basale) qu'à l'apex (près de la lumière), nous prenons en considération toute la hauteur de l'épithélium.

Les résultats correspondent à des mesures relatives, obtenues après un étalonnage initial arbitraire effectué à l'aide d'un étalon pour radioautographie (Leitz).

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes accompagnées d'un indice de dispersion qui est l'écart type à la moyenne.

La signification des différences entre les valeurs moyennes est objectivée par le test de la variable "t" de Student.

3° - Microscopie électronique

La technique que nous avons utilisée est celle préconisée par GRANBOULAN (1965) et LARRA et DROZ (1970).

Les coupes ultrafines, recueillies sur lames de verre où est préalablement déposé un film de celloïdine (celloïdine à 2% dans l'acétate d'isoamyle), sont contrastées à l'acétate d'uranyle à 2,5% dans l'éthanol à 50° pendant 20 mn. Rincées dans des bains successifs d'alcool à 50°, 30° et 10°, on les

amène ensuite dans de l'eau bidistillée. Les préparations séchées sont traitées au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963) pendant 2 mn, puis lavées. Après un nouveau séchage, on les recouvre d'un mince film de carbone puis d'émulsion nucléaire Ilford L₄ diluée au 1/5. A des expositions de 25 à 70 jours, succèdent le développement des préparations au Microdol X (Kodak) pendant 4 mn à 17°C, et la fixation au thiosulfate de sodium à 30%. Le film de celloïdine est détaché de la lame de verre par flottage sur l'eau bidistillée. Les grilles électrolytiques sont déposées sur les coupes. On recueille l'ensemble, à l'aide de filtres sans cendre (filtration rapide, Durieux n°4) que l'on met à sécher à l'étuve à 37°C dans des boîtes de Pétri entr'ouvertes. Les grilles électrolytiques, sont dégagées puis plongées dans l'acétate d'isoamyle à 2% afin "d'amincir" le film de celloïdine. Les préparations sont alors observées au microscope électronique.

VIII - TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES

Différents traitements pharmacologiques, en liaison avec l'étude du métabolisme indolique épiphysaire, ont été réalisés. Nous avons utilisé les drogues et les précurseurs suivants :

A - La réserpine (Serpasil-Ciba) drogue provoquant la déplétion des monoamines (CARLSSON et HILLARP, 1956)

Solution commerciale titrée à 2,5 mg/ml.

Chez 12 adultes ou immatures, nous avons effectué des injections intrapéritonéales de réserpine, à raison de 30 mg/kg en une injection (24 h avant le sacrifice) ou de 50 à 60 mg/kg en deux injections (24 et 48 h avant le sacrifice).

Chez 36 embryons, la réserpine est injectée dans l'allantoïde, 15 à 24 h avant le sacrifice, à raison de 10 à 50 µl (50 à 250 mg/kg).

- B - Le nialamide (Nialamide-Pfizer-Clin) drogue
inhibant les monoamine oxydases (COUTEAUX et al. 1965)

Solution commerciale titrée à 50 mg/ml.

Chez l'embryon, le nialamide est administré dans la cavité abdominale, à raison de 4 μ l, ou bien dans l'allantoïde, à raison de 12 à 20 μ l (environ 1000 mg/kg). Les traitements sont réalisés 12 à 15 h avant le sacrifice.

- C - Le Ro₄-4602 (Hoffmann-La Roche) drogue inhibant
les décarboxylases (FALCK et al. 1966)

Solution à 25 mg de drogue/ml de NaCl 9°/°°.

Chez l'embryon, le Ro₄-4602 est introduit par voie intrapéritonéale, à raison de 3,5 μ l ou bien dans l'allantoïde à raison de 8 à 10 μ l (environ 400 mg/kg). Les injections sont effectuées 6 h avant le sacrifice.

- D - Le DL-5-hydroxytryptophane = DL-5-HTP (Nutritional
Biochemical Corporation) précurseur de la sérotonine

Solution à 6 mg de précurseur/ml de NaCl 9°/°°.

Cinq adultes ont reçu par voie intrapéritonéale, 3 h avant le sacrifice, 30 à 40 mg/Kg de DL-5-HTP.

Chez 16 embryons, le précurseur est administré dans l'allantoïde (à raison de 10 à 50 μ l), dans la région du 3ème ventricule (à raison de 1 à 2 μ l), ou dans la cavité abdominale (à raison de 5 à 7 μ l). Les injections sont pratiquées 2h30 à 4 h avant le sacrifice.

- E - La sérotonine (sous forme de créatinine sulfate)
= 5-HT (Nutritional Biochemical Corporation)

Solution à 6 mg d'indolamine/ml de NaCl 9°/°°.

La 5-HT a été administrée chez 6 embryons dans des conditions identiques à celles décrites ci-dessus pour le DL-5-HTP (mode d'injection, doses d'indolamine et intervalle injection-sacrifice).

CHAPITRE II

ORGANOGENESE DU COMPLEXE PARIETAL

Les Reptiles adultes se caractérisent par une grande variabilité dans le nombre des organes pariétaux (zéro, un ou deux). Le plafond diencéphalique des Rynchocéphales et de la plupart des Lacertiliens montre un oeil pariétal (ou 3e oeil) antérieur à l'épiphyse. Cependant certains Caméléonidés, ainsi que les Chéloniens et les Ophidiens, ne possèdent qu'une épiphyse. Les Crocodiliens représentent le seul exemple connu chez les Vertébrés (voir KRABBE, 1935) où les organes pariétaux seraient absents, même au cours de l'ontogenèse.

Le problème de l'origine du 3e oeil, découvert par LEYDIG (1872), a été discuté pendant de nombreuses années (1880-1910). Deux théories principales se sont affrontées.

La première fait état de l'origine simple de l'oeil et de l'épiphyse à partir d'une ébauche unique ; l'oeil se formant à la suite d'une constriction de l'épiphyse. STRAHL (1884), STRAHL et MARTIN (1888), HOFFMANN (1886) ; SPENCER (1886), De KLINCKOWSTRÖM (1893, 1894) ont été les principaux défenseurs de cette théorie.

Cependant, d'autres travaux sont en faveur d'une origine distincte du 3ème oeil et de l'épiphyse à partir de deux ébauches contiguës. LEYDIG (1890) est le premier à décrire chez Lacerta agilis deux ébauches pariétales placées l'une derrière l'autre. Par la suite, BERANECK (1892, 1893) et FRANCOTTE (1894, 1896)

-qui dans un premier temps (BERANECK, 1887 ; FRANCOTTE, 1887, 1888) soutenaient la première interprétation- font des observations similaires à celles de LEYDIG, à propos des ébauches pariétales de Lacerta et d'Anguis. STUDNIČKA (1905), DENDY (1899, 1910, 1911), NOWIKOFF (1910) se prononcent également pour cette dernière théorie. Il semblait alors que le problème de l'origine des organes pariétaux chez les Lacertiliens avait progressé. Cependant, des observations plus récentes montrent qu'il n'en est rien et que l'alternative subsiste.

Pour KRABBE (1935), PREISLER (1942), BARGMANN (1943) et PASTEELS (1970), les organes pariétaux dérivent d'une ébauche unique. KRABBE (1935) considère même que la discussion sur l'origine du 3e oeil n'a plus d'objet : ce dernier se développe presque toujours à partir d'un étranglement de la partie distale de l'épiphyse. Au contraire, les travaux de TROST (1952, 1953, chez Anguis fragilis et Chalcides ocellatus), de Von HAFFNER (1953, chez Lacerta vivipara), de STEYN (1957, chez Cordylus polyzonus) d'EAKIN (1964, chez Sceloporus occidentalis) et de PETIT (1967, chez Anguis fragilis) plaident en faveur d'une origine double des organes pariétaux.

Si les recherches de TROST (1952, 1953) et de Von HAFFNER (1953) soulignent l'indépendance totale des deux ébauches pariétales, les données de STEYN (1957), d'EAKIN (1964) et de PETIT (1967) tendraient à montrer que l'oeil et l'épiphyse dérivent de deux ébauches contiguës qui, au cours des stades embryonnaires précoces, auraient, malgré tout, certaines parties communes.

Grâce à l'introduction de nouvelles techniques, nous étudierons les modalités de mise en place du complexe pariétal (= 3e oeil + épiphyse) et suivrons son évolution chez Lacerta vivipara.

I - MISE EN PLACE ET EVOLUTION DES EBAUCHES PARIETALES ET DE LEURS RELATIONS AVEC LE DIENCEPHALE

Stade 27 : deux légers épaisissements médians du

plafond diencéphalique, situés l'un derrière l'autre, correspondent aux territoires présomptifs des organes pariétaux (Fig. 2a).

A la fin du stade 27, les deux épaississements se sont rapprochés (Fig. 2b). L'ébauche rostrale -celle de l'oeil pariétal- se soulève très légèrement et sa partie distale vient en contiguïté avec l'épiblaste (Pl. I, fig. 1). Les cellules, au sein de l'ébauche, prennent une disposition radiale autour d'une petite dépression qui marque la zone primordiale d'évagination du matériel pariétal antérieur (Pl. I, fig. 1). L'ébauche pariétale postérieure -celle de l'épiphyse- correspond simplement à un épaississement discret de la voûte diencéphalique.

Stade 28 : au début du stade 28, les deux ébauches se sont encore tassées dans le sens antéro-postérieur (Fig. 2c) et le neuroectoderme, à leur niveau, s'est épaissi (Pl. I, fig. 2). Deux zones d'évagination indépendantes, l'une correspondant à l'ébauche de l'oeil pariétal, l'autre à l'ébauche épiphysaire, sont nettement visibles (Pl. I, fig. 2). L'ébauche antérieure pariétale se soulève nettement au-dessus du 3ème ventricule, entraînant dans ce mouvement l'ébauche postérieure épiphysaire.

Au stade 28, on assiste à une croissance très rapide en direction dorsale de l'ébauche pariétale antérieure. Les parois épaissies de cette évagination très saillante (Fig. 2d) délimitent alors une cavité -correspondant à la future lumière de l'oeil pariétal- qui s'ouvre largement sur le 3ème ventricule.

L'ébauche épiphysaire s'est peu développée au cours de ce stade. C'est une évagination, encore très discrète, placée juste derrière l'ébauche de l'oeil pariétal (Fig. 2d).

Stade 29 : l'ébauche pariétale antérieure augmente de volume mais elle ne subit pas de transformation majeure (Fig. 2e et Pl. I, fig. 3). Tout au plus, signalons qu'à la fin du stade 29, elle commence à s'infléchir en direction rostrale (Fig. 2f). Le territoire du futur oeil pariétal semble bien délimité. En effet, rostralement, l'épithélium du toit diencéphalique, très

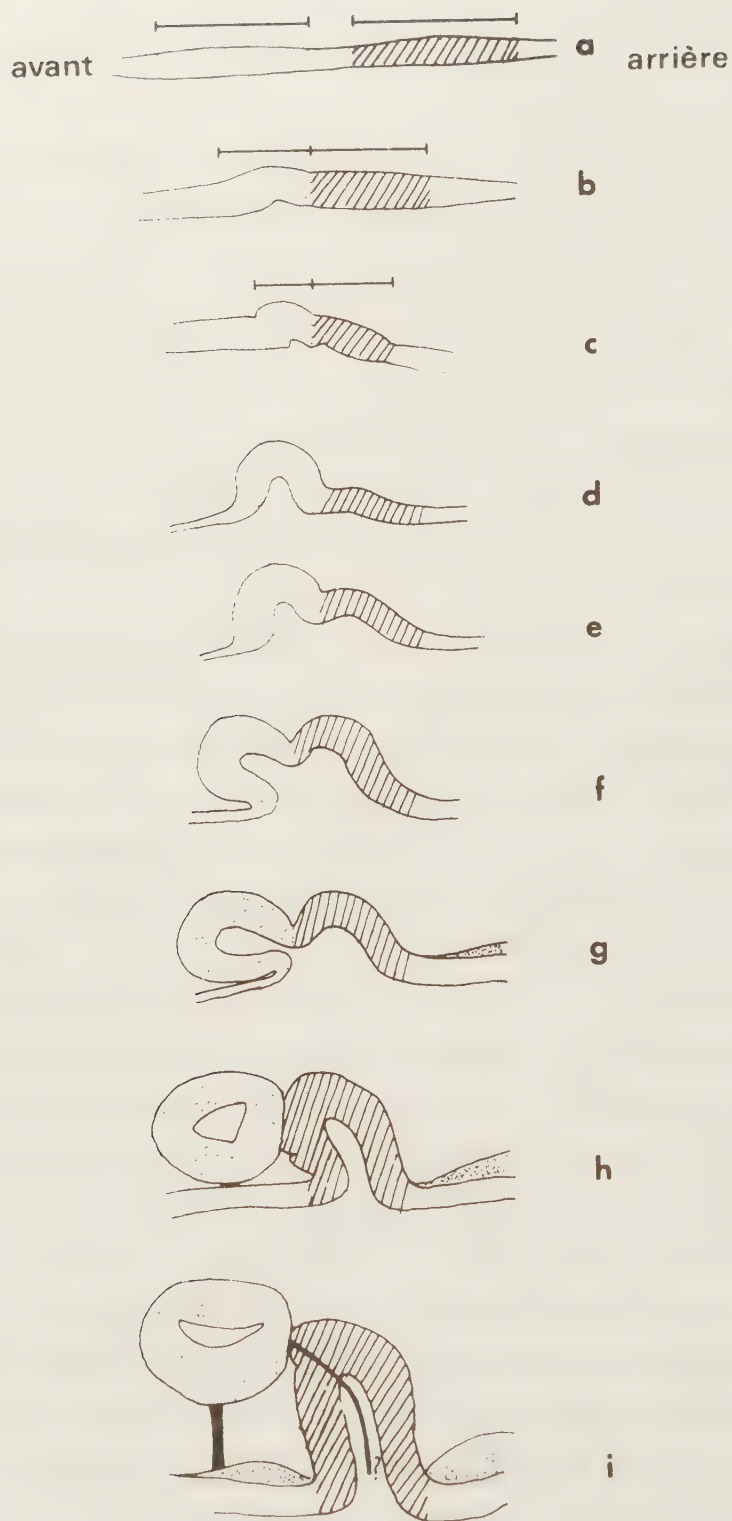


Fig. 2. Mise en place et évolution des ébauches pariétales.

-  oeil pariétal
-  épiphyse
-  commissures

mince, contraste avec les parois épaisses de l'ébauche (Pl. I, fig. 3). Par ailleurs, caudalement et latéralement, un sillon bien marqué la sépare de l'ébauche épiphysaire (Pl. I, fig. 3).

A ce stade, l'ébauche postérieure épiphysaire se développe (Fig. 2e et f). Elle croît en direction dorsale s'élevant à son tour nettement au-dessus du 3ème ventricule (Pl. I, fig. 3). Néanmoins, elle constitue toujours une évagination moins saillante que celle de l'oeil pariétal. Caudo-latéralement, l'ébauche épiphysaire n'est pas nettement délimitée des territoires épidiencéphaliques adjacents.

Le toit diencéphalique s'infléchit jusqu'à l'ébauche de la paraphyse, marquée par un épaississement épithélial (Pl. I ; fig. 3).

Stade 30 : la vésicule pariétale antérieure bascule rostralement (Fig. 2g et Pl. I, fig. 4) et vient en contiguïté avec le toit diencéphalique. Parfois elle se trouve très légèrement déviée à gauche par rapport au plan sagittal. Un sillon très net sépare maintenant l'ébauche de l'oeil pariétal du toit diencéphalique (Pl. II, fig. 1 et 2). Sa lumière se rétrécit mais communique toujours avec le 3ème ventricule.

Pour sa part, l'ébauche épiphysaire, située dans un plan parfaitement médian, poursuit sa croissance en direction rostrale (Fig. 2g ; Pl. I, fig. 4 ; Pl. II, fig. 1 et 2). Le territoire de l'épiphyse n'est toujours pas franchement délimité par rapport aux régions épidiencéphaliques caudo-latérales.

Chez certains individus, les deux ébauches apparaissent composées chacune de deux territoires, séparés par un sillon transversal (Pl. II, fig. 1 et 2). A l'autre extrémité de la voûte diencéphalique, l'ébauche de la paraphyse commence à s'évaginer. C'est à la fin de ce stade que la commissure postérieure se différencie, en arrière de l'ébauche épiphysaire.

Stade 31 : l'oeil pariétal s'individualise (Fig. 2h et Pl. II, fig. 3). Il occupe toujours une position rostrale vis-à-vis de l'épiphyse mais il est parfois assez nettement dévié à gauche par rapport au plan sagittal.

Au niveau de l'oeil deux territoires distincts, l'un dorsal, l'autre ventro-latéral, correspondent respectivement aux futures pellucide et rétine. Ils ménagent, entre eux, une cavité ou lumière de l'organe.

Dans la région médio-ventrale de l'oeil pariétal, des prolongements cellulaires "percent" la lamelle basale et rejoignent le toit diencéphalique sous-jacent (Pl. II, fig. 3 et 4) établissant ainsi une relation entre ces deux formations ; il s'agit de la mise en place du nerf pariétal qui précède la formation de la commissure habénulaire.

L'épiphyse est une évagination maintenant bien individualisée (Fig. 2h et Pl. II, fig. 3) et largement ouverte sur le 3ème ventricule. Sa partie distale accompagne l'oeil pariétal dans son mouvement de bascule et de translation latérale, si bien qu'elle apparaît fortement inclinée rostralement et parfois déviée sur la gauche par rapport au plan sagittal.

Chez certains individus, une connexion est identifiée entre l'oeil pariétal et l'épiphyse distale qui lui est attenante. Il est cependant difficile de préciser si cette connexion correspond à une séparation incomplète de l'oeil pariétal ou bien s'il s'agit d'une relation qui s'établit secondairement, après la séparation de l'oeil, (du type de celle qui se réalise entre l'oeil pariétal et le diencéphale).

Stade 32-33 : l'oeil pariétal se soulève du toit diencéphalique et migre dorsalement (Fig. 2i et Pl. II, fig. 5) de telle sorte que le nerf ou tractus pariétal, maintenant bien différencié, s'allonge. La commissure habénulaire se forme en avant de l'épiphyse.

L'épiphyse se redresse et poursuit sa croissance en direction dorsale. Sa lumière, qui communique encore avec le 3ème ventricule, est parfois sillonnée dorso-ventralement par un faisceau de prolongements cellulaires dont il est difficile, à ce stade de l'embryogenèse, de préciser l'origine. Chez certains individus, une dépression localisée dans la région rostro-moyenne de l'épithélium épiphysaire (Pl. II, fig. 5)

marque la zone de détachement de l'oeil pariétal. Dans quelques cas, nous avons également noté la persistance de la connexion (secondaire ?) qui relie l'oeil à l'épiphyse distale.

La commissure postérieure, en arrière de l'épiphyse (Pl. II, fig. 5), apparaît relativement bien développée.

Stade 33-34 : l'oeil pariétal continue son ascension dorsale et, au stade 34, il est placé juste au-dessus de l'épiphyse (Pl. II, fig. 6).

L'oeil pariétal et l'épiphyse distale peuvent être reliés par un isthme. Des procès cellulaires, issus de l'oeil et paraissant de même nature que ceux qui constituent le nerf pariétal, empruntent cette voie, traversent ensuite l'épithélium épiphysaire, puis sillonnent dorso-ventralement la lumière épiphysaire. Néanmoins, nous n'avons pu suivre jusqu'ici leur trajet distal.

Les faisceaux de prolongements cellulaires, identifiés dès le stade 32-33 dans la lumière épiphysaire de certains individus, pourraient correspondre à des procès de nature axonique, issus de la rétine de l'oeil pariétal.

L'épiphyse s'est étirée en direction dorsale. Elle est reliée au diencéphale par un épais pédoncule (Pl. II, fig. 6). Sa cavité primordiale se ferme, de telle sorte qu'au stade 34 elle n'apparaît plus en communication avec le 3ème ventricule.

Stades 35 à 40 : le complexe pariétal a acquis la conformation qu'il revêt chez l'adulte. L'oeil est placé juste sous l'épiderme. De forme ovoïde et aplati dorso-ventralement, il est constitué par une pellucide dorsale et une rétine ventro-latérale. Un long tractus de calibre important le relie à la commissure habénulaire. La connexion entre l'oeil et l'épiphyse a pu être identifiée, chez certains individus, jusqu'à des stades très avancés de l'embryogenèse (35 : Pl. III, fig. 6) voire même 39 et 40.

L'épiphyse piriforme (Pl. III, fig. 8 et Pl. VI, fig. 1) est intracrâniale. Sa partie la plus effilée est reliée à l'épithalamus. L'épithélium épiphysaire ne montre pas de replis. Bien que la zonation suivante soit peu justifiable morpho-

logiquement, nous distinguons pour faciliter l'exposé de nos résultats ultérieurs trois régions épiphysaires (Pl. III, fig. 8) : distale (localisée à proximité de l'oeil pariétal), moyenne et proximale (contiguë à l'épithalamus).

Dans le cadre de notre étude embryologique, il était nécessaire, avant de formuler des conclusions relatives à l'origine des organes pariétaux, de prendre en considération l'évolution des zones de prolifération cellulaire qui contribuent à la croissance des deux ébauches. En effet, compte tenu de la divergence des auteurs sur ce problème, il apparaît que des images statiques sont, à elles seules, insuffisantes pour analyser l'organogenèse des dérivés pariétaux et plus particulièrement celle de l'oeil pariétal.

II - ZONES DE PROLIFERATION CELLULAIRE

Après injection de thymidine- ^3H , nous avons recherché aux stades 29, 30, 31, 33 et 35, les zones de divisions cellulaires au sein des ébauches pariétales et dans les territoires épidiencéphaliques adjacents. Les embryons, quel que soit le stade embryonnaire considéré, ont été sacrifiés 10 heures après l'injection intrapéritonéale d'une dose unique de 20 à 25 μCi de traceur.

A - Au niveau de l'oeil pariétal

Stade 29 : au sein de l'ébauche de l'oeil pariétal, les noyaux ayant incorporé la thymidine- ^3H sont très nombreux et répartis au hasard dans l'ensemble de l'ébauche (Pl. III, fig. 1, 2 et 3).

Au niveau du neuroectoderme, dans les régions rostrales directement contiguës à l'ébauche de l'oeil pariétal, aucun noyau n'est marqué (Pl. III, fig. 1, 2 et 3). Comme le suggéraient nos observations précédentes, il semble bien que ce

matériel ne participe plus, à ce stade l'embryogenèse, à l'édification de l'oeil pariétal. Les régions caudo-latérales de l'ébauche de l'oeil pariétal sont délimitées par un sillon profond. Ainsi, il est peu probable que les territoires épiphysaires, situés caudalement par rapport à cette limite, puissent participer à l'élaboration de l'oeil pariétal.

A ce stade de l'embryogenèse, les multiplications cellulaires, contribuant à la croissance de l'ébauche de l'oeil pariétal, se réalisent dans l'ébauche elle-même et n'ont pas de localisation préférentielle. Les territoires épidiencéphaliques qui lui sont contigus ne participent plus à son édification. En conséquence, le territoire de l'oeil pariétal est défini antérieurement au stade 29.

Stade 30 : le territoire de l'oeil pariétal, toujours bien délimité des autres structures diencéphaliques dorsales, renferme, comme au stade précédent, de nombreuses cellules en division, réparties dans l'ensemble de l'ébauche (Pl. III, fig. 4 et 5).

Stade 31 : les noyaux qui incorporent la thymidine-³H sont encore très nombreux au niveau de l'oeil, à l'exception cependant de la zone d'émergence du nerf pariétal.

Stades 33 et 35 : l'activité mitotique, au niveau de l'oeil pariétal, décroît progressivement, mais au stade 35, quelques divisions cellulaires affectent encore les cellules de la rétine (Pl. III, fig. 6) et de la pellucide (Pl. III, fig. 7).

B - Au niveau de l'épiphyse

Stade 29 : quelques noyaux ayant incorporé la thymidine-³H sont observés dans l'ébauche épiphysaire (Pl. III, fig. 1 et 2). Néanmoins, dans les territoires neuroectodermiques adjacents à l'ébauche épiphysaire [essentiellement dans les régions situées caudalement (Pl. III, fig. 3) et latéralement (Pl. III, fig. 1, 2) par rapport à celle-ci], l'activité mitotique est nettement plus intense.

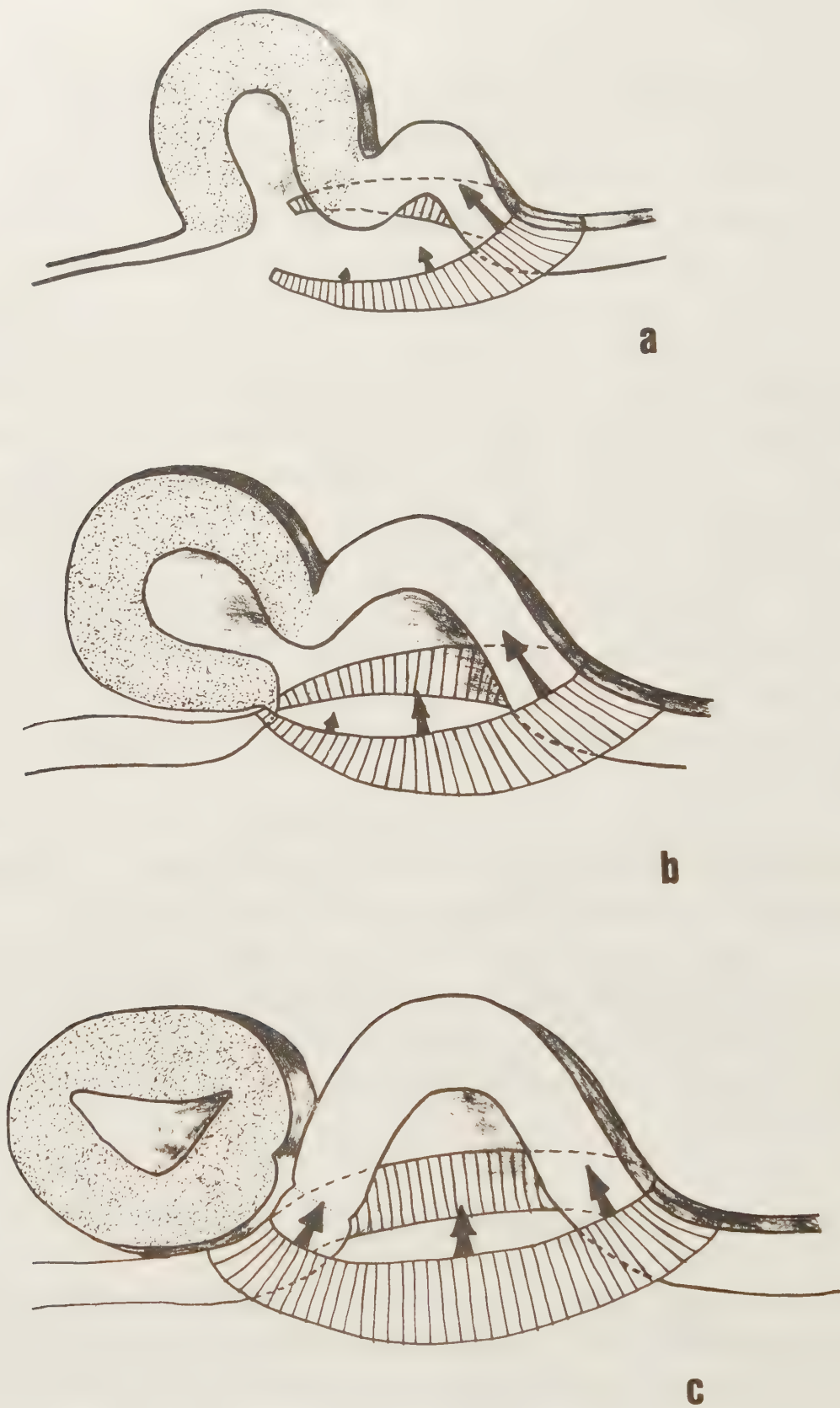


Fig. 3. Les zones de prolifération cellulaire.

-  au niveau de l'oeil pariétal
-  au niveau de l'épiphyse

A ce stade, les zones de prolifération cellulaire, se localisent à la base de l'ébauche épiphysaire sous la forme d'un croissant (Fig. 3a) dont le corps est situé caudalement et les deux cornes orientées rostralement.

Stade 30 : comme au stade précédent, quelques divisions concernent certaines cellules de l'ébauche épiphysaire. Cependant, les réactions radioautographiques sont toujours très intenses au niveau des territoires péri-épiphysaires, notamment dans les régions situées caudalement et latéro-rostralement. Ces zones de prolifération cellulaire se sont étendues en direction rostrale (Fig. 3b) ; les deux cornes du croissant se rejoignent pratiquement dans la région où l'ébauche de l'oeil pariétal s'insère encore sur le toit diencéphalique.

Stade 31 : des cellules en division s'observent encore dans l'ensemble de l'épiphyse (Pl. III, fig. 4 et 5). Cependant, l'activité mitotique est surtout intense dans les territoires épithalamiques sous-jacents et dans la partie proximale épiphysaire (Pl. III, fig. 4 et 5). Les zones de prolifération cellulaire constituent désormais un anneau basal régulier (Fig. 3c).

Stade 33 : on note toujours la présence de quelques noyaux marqués dans l'épiphyse distale et moyenne. Les divisions cellulaires sont toujours plus nombreuses dans la partie proximale épiphysaire et dans l'épithalamus sous-jacent. Du matériel péri-épiphysaire proximal contribue toujours à l'édification de l'organe.

Stade 35 : les cellules en division sont relativement rares dans l'épiphyse distale et même moyenne (Pl. III, fig. 8). Par contre, les noyaux des cellules de l'épiphyse proximale et du pédoncule épiphysaire sont toujours plus nombreux à incorporer la thymidine-³H.

III - DISCUSSION

A - Sur l'origine distincte de l'oeil et de l'épiphyse à partir d'ébauches contiguës

Dans l'introduction, nous avons mentionné les divergences d'opinions à propos de la morphogenèse des organes pariétaux chez les Lacertiliens. Nous préciserons ici que les auteurs, ayant soutenu que l'oeil se formait à partir de l'épiphyse, n'ont généralement pas observé les étapes morphogénétiques qui précèdent le stade où l'ébauche de l'oeil pariétal se déplace rostralement. Ils ont attaché une attention toute particulière au phénomène de "constriction de l'oeil à partir de l'épiphyse".

De nos observations, il ressort clairement que le 3ème oeil et l'épiphyse dérivent de deux territoires antéro-postérieurs de la voûte diencéphalique, nettement distincts l'un de l'autre, dès le stade 27 de l'embryogenèse. TROST (1952, 1953) avait déjà signalé une telle situation à propos des organes pariétaux d'autres Lacertiliens.

Les deux territoires s'évaginrent successivement : celui de l'ébauche de l'oeil pariétal à la fin du stade 27 et celui de l'ébauche épiphysaire au début du stade 28.

Par la suite, les deux ébauches évoluent de façon asynchrone. L'oeil pariétal s'accroît très rapidement au stade 28, alors que l'épiphyse voit son développement différé aux stades 29 et 30. La dynamique de croissance de l'ébauche épiphysaire explique en grande partie l'organogenèse de l'oeil pariétal : par suite d'une croissance en direction rostrale, l'ébauche épiphysaire (stades 29 et 30) exerce une poussée sur la partie caudale de l'ébauche de l'oeil pariétal déjà bien développée. De ce fait, cette dernière se trouve projetée rostralement et bascule sur le toit diencéphalique. Par la suite, l'intense activité des zones basales annulaires de prolifération cellulaire épiphysaire favorise la partition de ces 2 dérivés diencéphaliques dorsaux.

Selon FRANCOTTE (1894, 1896), STEYN (1957), EAKIN (1964) et PETIT (1967) une partie de la rétine de l'oeil pariétal de Lacertiliens variés participerait à l'élaboration de la zone ventro-rostrale de l'épiphyse.

Or, l'étude expérimentale des zones de prolifération cellulaire, chez Lacerta vivipara, ne nous conduit pas à une telle interprétation. En effet, le territoire de l'oeil pariétal est défini précocement (antérieurement au stade 29) et, dès ce stade, l'ébauche pariétale antérieure se développe de façon autonome, par suite d'une multiplication des cellules qui lui sont intrinsèques.

Par ailleurs, dès le stade 29, nous avons pu identifier des zones de prolifération cellulaire appartenant spécifiquement à l'ébauche épiphysaire. Leur distribution varie au cours de l'ontogenèse : tout d'abord caudo-latérales (stade 29), elles s'étendent ensuite rostralement (stade 30) pour constituer finalement un anneau basal (stade 31).

Chez Lacerta vivipara, dans des conditions normales de développement, le processus de séparation de l'oeil et celui du fonctionnement des zones de prolifération cellulaire épiphysaires rostrales sont deux phénomènes contemporains. Cependant, il n'est pas exclu, dans des conditions anormales de développement chez Lacerta, ou bien dans des conditions normales chez d'autres Lacertiliens, que des zones de prolifération cellulaire épiphysaires rostrales puissent fonctionner antérieurement à la séparation de l'oeil. Ainsi, chez deux embryons de Lacerta vivipara (SCHMIDT, 1909), présentant des anomalies de développement des dérivés diencéphaliques dorsaux, l'oeil pariétal n'est pas séparé de l'épiphyse (Fig. 4a), mais il est cependant nettement soulevé du toit diencéphalique. Nous n'avons jamais observé de morphogenèse anormale, mais la dépression (Fig. 4b), marquant la zone de séparation de l'oeil, subsiste dans la région rostrale de l'épiphyse jusqu'à des stades avancés de l'embryogenèse (32) et progresse en direction dorsale au fur et à mesure que du matériel, issu des zones de prolifération cellulaire basales, s'incorpore à l'épiphyse. Il est évident que si l'oeil ne s'était pas individualisé, il constituerait un

bourgeon dans la région rostro-moyenne de l'épiphyse.

EAKIN (1964), chez 2 individus adultes de Sceloporus occidentalis, décèle un oeil pariétal intégré à l'épiphyse distale. L'auteur considère qu'il se situe dans sa position d'origine.



Fig. 4. Tentative d'interprétation, en fonction des zones de prolifération cellulaire, des morphogenèses anormales observées par SCHMIDT (1909) chez Lacerta vivipara.

Lors de telles situations, il apparaît bien que la partie épiphysaire située ventralement (Fig. 4a et b) par rapport à la zone de séparation ou par rapport à la connexion subsistant entre l'oeil et l'épiphyse, ne correspond nullement à un territoire de l'oeil ayant contribué à l'élaboration de l'épiphyse (PETIT, 1967). Selon nous, elle représente du matériel issu des zones de prolifération cellulaire rostro-basales épiphysaires.

D'après les premières données expérimentales obtenues chez Lacerta vivipara, il semble que les problèmes concernant la mise en place et l'évolution des organes pariétaux chez d'autres Lacertiliens, doivent être reconsidérés.

Ainsi, chez l'Orvet, où les auteurs (FRANCOTTE, 1894, 1896 ; PETIT, 1967) semblent s'accorder pour parler d'une participation de l'ébauche de l'oeil pariétal à l'épiphyse, on peut se demander si les images observées témoignent de l'intégration d'une partie

de l'oeil à l'épiphyse (Fig. 5a), -annonçant la fusion des deux ébauches pariétales (PETIT, 1967)-, ou bien si elles correspondent à un fonctionnement des zones de prolifération cellulaire épiphysaires rostrales (Fig. 5b) avant l'indivision de l'oeil.

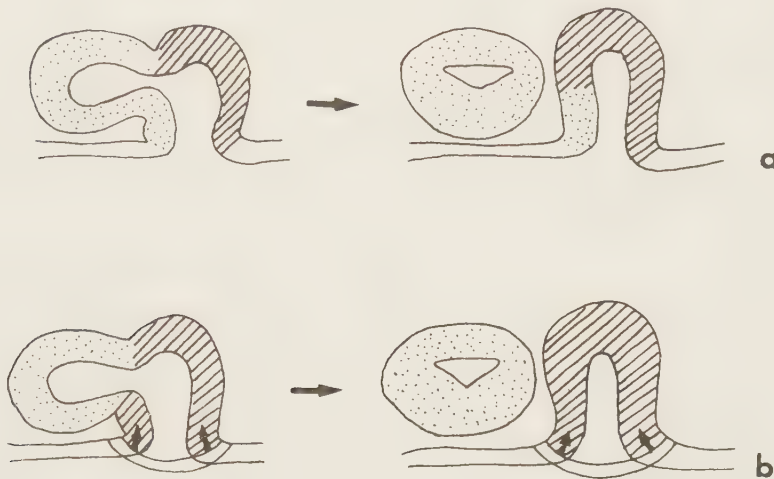


Fig. 5. Interprétation proposée pour expliquer la morphogenèse des organes pariétaux d'autres Lacertiliens.

Notons enfin que chez Lacerta, à partir du stade 31, les zones de prolifération cellulaire épiphysaires, constituent un anneau basal et que ces observations sont conformes à celles effectuées chez les Amphibiens (HENDRICKSON et KELLY, 1969), attestant que les zones de multiplication cellulaire appartiennent aux régions épidiencéphaliques sous-jacentes à l'épiphyse.

B - Critères, chez Lacerta, annonçant l'intégration de l'ébauche de l'oeil pariétal à celle de l'épiphyse

Chez les Chéloniens (VIVIEN-ROELS et PETIT, 1973) et les Ophidiens (PETIT, 1968a), deux ébauches pariétales primitives contribuent à l'édification de l'épiphyse. Plusieurs phénomènes, chez Lacerta, laissent présager d'une incorporation de l'ébauche de l'oeil pariétal à celle de l'épiphyse :

a) la dynamique rostrale des zones de prolifération cellulaire épiphysaires -qui englobe le territoire de l'oeil (celui-ci se libérant par constriction)- constitue une situation favorable permettant l'intégration de l'ébauche de l'oeil pariétal.

b) les anomalies de développement qui affectent les organes pariétaux des Lacertiliens (SCHMIDT, 1909 ; EAKIN, 1964) corroborent cette constatation.

c) enfin, les fibres nerveuses, observées dans la lumière épiphysaire, correspondent vraisemblablement à une incorporation d'une partie du nerf pariétal à l'épiphyse.

Cependant, chez Lacerta, cette intégration n'est que partielle (puisque'un nerf pariétal bien développé est par ailleurs identifié), inconstante (puisque'elle n'est pas présente chez tous les individus) et transitoire (puisque'elle ne semble pas subsister chez l'animal mature). En effet, un phénomène de dégénérescence affecte ces fibres (voir Chapitre III) et indique que la connexion entre les deux organes peut disparaître. KRABBE (1935), chez l'embryon de Chamaeleo bitaeniatus, où l'épiphyse est le seul organe pariétal représenté, signale la présence d'un "cordon central" qui sillonne dorso-ventralement la lumière. Celui-ci pourrait correspondre à la persistance, chez ce Lacertilien, du "nerf pariétal". Dans ce cas, l'ébauche de l'oeil est vraisemblablement intégrée à l'épiphyse distale.

Des recherches embryologiques chez les Caméléonidés doivent néanmoins confirmer cette interprétation.

C - Sur le problème de l'origine des organes pariétaux chez les Lacertiliens à partir d'une seule paire ou de deux paires d'ébauches bilatérales

Considérant pour l'oeil pariétal le décalage à gauche par rapport au plan sagittal, DENDY (1910, 1911) suppose que les dérivés diencéphaliques dorsaux des Reptiles ont une origine bilatérale ; deux ébauches primitivement symétriques se placeraient ensuite l'une derrière l'autre. L'oeil pariétal rostral

dériverait de l'ébauche gauche et l'épiphyse caudale de l'ébauche droite. Von HAFFNER (1953), EAKIN (1964), à la suite d'études embryologiques descriptives effectuées à des stades tardifs chez les Lacertiliens, appuient cette interprétation.

Les observations, réalisées chez Lacerta vivipara, ne nous conduisent pas à partager les interprétations des auteurs précités. En effet, sur notre matériel, les ébauches du 3ème oeil et de l'épiphyse sont au contraire représentées, aux premiers stades de leur morphogenèse, par deux territoires médians du toit du cerveau intermédiaire, nettement distincts l'un de l'autre (stade 27) et qui se mettent ensuite en contact selon une direction antéro-postérieure (fin du stade 27 et début du stade 28). La translation de l'oeil sur la gauche du plan sagittal est un phénomène secondaire, puisque décelé seulement à des stades avancés de l'embryogenèse (30 et 31) et, de surcroît inconstant. Ce critère nous semble insuffisant pour attribuer une "origine gauche" à l'oeil pariétal.

La présence très fréquente d'ébauches pariétales composées chacune de deux territoires distincts plaide, au contraire, en faveur de la théorie de STUDNIČKA (1905), reprise par FRIEDRICH-FREKSA (1932), selon laquelle l'oeil pariétal et l'épiphyse sont issus chacun de la fusion d'ébauches paires symétriques.

Les études embryologiques de CAMERON (1903) et expérimentales de SPEMANN (1912) et Van de KAMER (1949), chez les Amphibiens, montrent clairement que l'épiphyse résulte de la fusion de deux ébauches, droite et gauche ; chacune peut donner, expérimentalement, une épiphyse (SPEMANN, 1912).

L'absence de fusion de ces ébauches pourrait donc conduire à des développements anormaux et à la formation d'organes doubles. Ainsi, LOCY (1894) observe chez un exemplaire de Squalus acanthias 4 vésicules pariétales correspondant vraisemblablement à 2 organes pinéaux et 2 organes parapinéaux. Chez Lampetra planeri (MEINIEL, 1969a, 1970), nous avons noté, à deux reprises, la présence de 2 organes parapinéaux. Nous avons alors postulé pour l'origine composite des organes pinéal et parapinéal de Lampetra à partir de deux paires d'ébauches.

Dans le groupe des Lacertiliens, De KLINCKOWSTRÖM (1894), chez deux embryons d'Iguana, et PETIT (1967) chez un embryon d'Anguis, constatent la présence de deux nerfs pariétaux. Par ailleurs, le nerf pariétal, chez les embryons d'Anguis normaux, se rendrait aux ganglions habénulaires droit et gauche (PETIT, 1967), ce qui tendrait à prouver l'origine bilatérale de l'oeil.

En accord avec PETIT (1967), nous pensons que l'oeil pariétal et l'épiphyse des Lacertiliens résultent de la fusion de deux paires d'ébauches.

Au cours de l'évolution, il semble qu'il y ait eu tout d'abord une fusion d'ébauches paires symétriques conduisant à la formation de deux dérivés diencéphaliques dorsaux, suivie ultérieurement d'un regroupement antéro-postérieur, à l'origine d'un organe unique appelé épiphyse. Ce dernier cas est bien illustré par les travaux de PETIT (1968a), chez les Ophidiens, et VIVIEN-ROELS et PETIT (1973), chez les Chéloniens.

CHAPITRE III

HISTOGENESE ET CYTOGENESE LE GRADIENT DISTO-PROXIMAL DE DIFFERENCIATION CYTOLOGIQUE DE L'EPIPHYSE

I - HISTOGENESE DES DERIVES PARIETAUX

A la suite de nos observations sur l'organogenèse épidiencéphalique, il était nécessaire de préciser l'évolution histologique des dérivés pariétaux. Afin que le lecteur puisse suivre avec plus de facilité l'exposé de nos observations, nous présentons brièvement leur structure telle qu'elle est connue chez l'adulte.

A - L'oeil pariétal

1° - Rappel de sa structure chez l'adulte

Dans sa monographie "The Third Eye", EAKIN (1973) présente une mise au point des connaissances actuelles et rappelle les caractéristiques des différents constituants de ce dérivé pariétal.

a) La "lentille"

Malgré son origine neuroectodermique, l'épithélium dorsal est assimilé à une lentille par analogie fonctionnelle avec le

cristallin des yeux latéraux. Par ailleurs, les cellules lentillaires et le cristallin possèdent des caractéristiques antigéniques communes (Mc DEVITT, 1972, chez Anolis carolinensis). Ces cellules, dépourvues de pigments, constituent un épithélium palissadique.

b) La rétine

L'épithélium ventro-latéral est une rétine directe dans laquelle trois types cellulaires sont reconnus :

- des cellules interstitielles qui occupent toute la hauteur de l'épithélium. Elles sont riches en pigments qui dans diverses conditions d'illumination montrent une localisation variable au sein de la cellule (NOWIKOFF, 1910 ; EAKIN, 1973).

- des photorécepteurs, de type cône, qui s'intercalent entre les cellules interstitielles de type épendymaire. Leurs pédicules basaux constituent, avec les dendrites des neurones sensoriels intra-épithéliaux, une zone plexiforme.

- enfin des neurones sensoriels qui sont localisés en position basale dans l'épithélium. Ceux-ci sont séparés de la lamelle basale par les corps cellulaires des cellules interstitielles de type épendymaire.

Les axones des neurones sensoriels se regroupent et constituent le tractus pariétal qui émerge de la région médio-ventrale de la rétine pour aboutir à la commissure habénulaire.

2° - Histogenèse de l'oeil pariétal chez Lacerta vivipara

Stade 27 : toutes les cellules reposent sur la lamelle basale (Pl. I, fig. 1). Les unes possèdent un noyau de petite taille et de forme sphérique, occupant généralement une position basale au sein de l'épithélium. Les autres sont pourvues d'un noyau ovoïde, volumineux et situé en position moyenne ou basale dans l'épithélium.

Ainsi, grâce à la taille et à la forme des noyaux, deux catégories cellulaires peuvent être identifiées. La grande richesse en inclusion d'aspect lipidique (Pl. I, fig. 1) ne permet cependant pas de distinguer une éventuelle différence d'affinité tinctoriale de leur cytoplasme, au bleu de toluidine.

Stade 28 : comme au stade précédent, deux types cellulaires sont reconnus dans l'ébauche pariétale. Certaines cellules sont observées sur toute la hauteur de l'épithélium. Elles possèdent un noyau de forme sphérique occupant généralement une position basale au sein de l'épithélium (Pl. I, fig. 2). Ces cellules représentent de futures cellules interstitielles de type épendymaire.

Le deuxième type cellulaire ne repose plus sur la lamelle basale. Il est caractérisé par un noyau ovoïde, situé en position moyenne au sein de l'épithélium (Pl. I, fig. 2). Ces cellules sont identifiées comme étant des cellules souches de photorécepteurs.

Les inclusions d'aspect lipidique sont toujours bien représentées dans les deux catégories cellulaires (Pl. I, fig. 2). De plus, on note la présence, dans leur cytoplasme, de vacuoles de grande taille plus ou moins riches en matériel chromophile (Pl. I, fig. 2). L'étude, en microscopie électronique (voir paragraphe II de ce chapitre), a révélé qu'elles correspondent à des corps autophagiques.

Stade 29 : la région distale de l'ébauche pariétale -territoire qui contribuera ultérieurement à l'édification de la rétine- renferme maintenant les cellules souches des trois types cellulaires définis chez l'animal mature.

Les cellules interstitielles de type épendymaire s'appliquent contre la lamelle basale et occupent toujours toute la hauteur de l'épithélium (Pl. IV, fig. 1). Leur cytoplasme est légèrement moins chromophile que celui des futurs photorécepteurs. Quant à ces derniers, ils ne subissent pas, par rapport au stade précédent, de modifications notables. Signalons cependant que leur segment interne, région comprise au dessus du noyau, s'est allongé (Pl. IV, fig. 1).

Des inclusions d'aspect lipidique et des corps autophagiques se rencontrent encore fréquemment dans le cytoplasme de ces deux catégories cellulaires (Pl. IV, fig. 1).

Un troisième type cellulaire, localisé à la base de l'épithélium, montre une affinité tinctoriale plus faible au bleu de toluidine (noyau et cytoplasme) que les deux types cellulaires précédents. Ces cellules de par leur position au sein de l'épithélium et leur forme sphérique représentent vraisemblablement des neuroblastes (Pl. IV, fig. 1).

Dans la région pariétale attenante à l'ébauche épiphysaire (future lentille ou pellucide), les cellules de type épendymaire et les cellules souches des photorécepteurs apparaissent sensiblement plus riches en vacuoles d'aspect lipidique que celles des autres régions pariétales.

Stade 30 : dans la future pellucide, territoire contigu à l'ébauche épiphysaire, on note une nette prédominance des cellules interstitielles de type épendymaire. Celles-ci apparaissent toujours très riches en inclusions d'aspect lipidique. Néanmoins, se rencontrent également, à ce niveau, quelques cellules de type sensoriel, montrant une affinité tinctoriale plus élevée.

Dans la future rétine, comprenant les territoires crâniiaux (Pl. IV, fig. 2) et ventraux de l'ébauche pariétale, les trois types cellulaires présentent des caractères similaires à ceux décrits au stade précédent. Les cellules interstitielles de type épendymaire et les neurones sensoriels ne subissent pas de transformations notables (Pl. IV, fig. 2). Par contre, les futurs photorécepteurs acquièrent une forme de fuseau caractéristique (Pl. IV, fig. 2).

Stade 31

La lentille : les cellules lentillaires occupent toute la hauteur de l'épithélium. Leur noyau est en position basale, moyenne ou apicale. Les rares cellules de type sensoriel qui s'intercalent dans cet épithélium ne montrent pas de protubérance dans la lumière.

La_rétine : les trois types cellulaires définis antérieurement constituent un épithélium de type sensoriel. Les segments internes des futurs photorécepteurs font maintenant saillie dans la lumière de l'organe. Les cellules interstitielles de type épendymaire et les neurones sensoriels conservent des caractères histologiques proches de ceux décrits au stade précédent.

Le_nerf_pariétal : il n'apparaît pas nettement délimité des espaces mésenchymateux périphériques (Pl. II, fig. 4). Les prolongements cellulaires (vraisemblablement axoniques) qui le constituent, sont relativement peu nombreux. Ils sont accompagnés par quelques cellules à noyau sombre, de petite taille, pouvant représenter les futures cellules satellites.

Stade 32-33

La_lentille : elle présente un aspect histologique comparable à celui décrit au stade précédent.

La_rétine : dans le tiers apical de certaines cellules interstitielles de type épendymaire, apparaissent de petites colonies de pigments (Pl. IV, fig. 3). Le segment interne des futurs photorécepteurs fait très nettement saillie dans la lumière de l'organe (Pl. IV, fig. 3). Les neurones sensoriels toujours très pâles, sont maintenant plus volumineux à la base de l'épithélium (Pl. IV, fig. 3). Dans cette même région, des faisceaux d'axones nus sont également identifiés (Pl. IV, fig. 3). Ils se localisent dans une zone comprise entre les pédicules basaux des futurs photorécepteurs et la "barrière épendymaire", formée par les prolongements basaux ou les corps des cellules interstitielles de type épendymaire.

Le_nerf_pariétal : le nerf pariétal est désormais délimité des espaces mésenchymateux par une lamelle basale. Il est très court, mais renferme un contingent important de prolongements axoniques qui se mêlent aux fibres nerveuses de la commissure habénulaire.

Stades 34 à 40 : les éléments qui constituent l'oeil pariétal de l'adulte sont donc en place au stade 34 de l'embryogenèse. Jusqu'au stade 40, précédant la naissance, ils poursuivent leur différenciation.

La lentille : c'est un épithélium palissadique, formé par la juxtaposition de cellules hautes à cytoplasme clair et à noyau très chromophile, dont la localisation (apicale, moyenne ou basale) est très variable.

La rétine : dans les cellules interstitielles de type épendymaire, le nombre des pigments augmente progressivement, du stade 34 au stade 40 (Pl. IV, fig. 4), dans les différentes régions cellulaires. En fin d'embryogenèse, ces cellules présentent alors une affinité tinctoriale au bleu de toluidine (cytoplasme et noyau) plus élevée que celle des cellules de type sensoriel. Leurs corps cellulaires -avec un noyau de faibles dimensions- reposent sur la lamelle basale (Pl. IV, fig. 4).

Les futurs photorécepteurs montrent des affinités tinctoriales variables au bleu de toluidine (Pl. IV, fig. 4). Cependant, contrairement à ce qui est observé aux stades précédents, ils apparaissent généralement plus clairs que les cellules interstitielles de type épendymaire. Leur noyau volumineux, et de forme ovoïde, contient un ou deux nucléoles très chromophiles. Ces cellules montrent une structure typique ; elles sont constituées d'un segment interne, d'un corps cellulaire et d'un pédicule basal qui se termine au niveau de la zone plexiforme. Aux stades 36, 37 et 38, le segment interne est surmonté d'une petite expansion cytoplasmique qui évolue en fin d'embryogenèse (stades 39 et 40) en un segment externe relativement court.

Les neurones sensoriels localisés à la base de l'épithélium sensoriel, sont très volumineux et de forme sphérique (Pl. IV, fig. 4). Leur noyau occupe la majeure partie du corps cellulaire. Dans la couche cytoplasmique périnucléaire, de fines granulations denses correspondent vraisemblablement à la "substance tigroïde" (ergastoplasme) et au chondriome. D'importants faisceaux d'axones amyéliniques sont également identifiés à la base de la rétine.

Le nerf pariétal : celui-ci s'allonge tout en conservant les mêmes caractères histologiques que ceux décrits au stade 32-33. Chez un individu au stade 36, nous avons dénombré, en microscopie

électronique, 420 axones amyéliniques.

Ainsi, en fin d'embryogenèse, les différents constituants de l'oeil pariétal sont bien différenciés.

B - L'épiphyse

1° - Rappel de sa structure chez l'adulte

Comme pour l'oeil pariétal, nous rappelons préalablement la structure des différents constituants épiphysaires chez l'adulte. Pour plus de précisions à ce sujet, le lecteur peut se rapporter aux travaux détaillés de STUDNIČKA (1905), KAPPERS (1967), OKSCHE et KIRSCHSTEIN (1968) et COLLIN (1969a).

a) L'épithélium épiphysaire

Dans l'épithélium épiphysaire, les cellules interstitielles de type épendymaire et les photorécepteurs rudimentaires sécrétoires sont quantitativement les deux types cellulaires les mieux représentés. Les photorécepteurs typiques et les neurones sensoriels sont rares.

Les cellules interstitielles de type épendymaire occupent toute la hauteur de l'épithélium. En bordure de la lumière épiphysaire, elles sont pourvues de fines expansions cytoplasmiques correspondant à des microvillosités et des cils. Leur noyau, de petite taille, a le plus fréquemment une position basale parfois sub-apicale au sein de l'épithélium. Dans l'épiphyse distale, ces cellules peuvent renfermer, dans leur cytoplasme, des granules pigmentaires. La densité de ces organites et leur localisation cellulaire varient selon les individus.

Les cellules de la lignée sensorielle (photorécepteurs, photorécepteurs rudimentaires sécrétoires et types cellulaires intermédiaires) sont des cellules fusiformes. Leur noyau volumineux, de forme ovoïde, se situe généralement en position moyenne dans l'épithélium. Sa chromatine présente une affinité tinctoriale au bleu de toluidine plus faible que celle des noyaux des cellules interstitielles de type épendymaire. Elle contient un ou deux nucléoles très chromophiles.

Le segment interne de ces cellules fait saillie dans la lumière de l'organe. En microscopie photonique, l'identification des deux types caractéristiques de cellules sensorielles reste très délicate. Chez Lacerta muralis, COLLIN (1969a) a néanmoins pu les différencier. Les photorécepteurs sont regroupés au niveau des vésicules distales.

Les neurones sensoriels sont des cellules volumineuses, d'aspect très clair après coloration au bleu de toluidine (COLLIN, 1969a). Elles sont très rares et généralement localisées dans l'épiphyse moyenne (KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1969a chez Lacerta viridis).

b) Le tractus pinéal

La tige pinéale (ou tractus pinéal) est issue de la région proximale épiphysaire. Elle renferme des faisceaux d'axones nus [110, 148 chez deux individus de Lacerta muralis ; 73, 98 chez deux individus de Lacerta viridis (COLLIN, 1969a)]. Ceux-ci sont accompagnés par des cellules satellites. Signalons cependant que tous les axones n'emprunteraient pas cette voie. Chez Lacerta viridis (KAPPERS, 1967 ; COLLIN et KAPPERS, 1968), des faisceaux de fibres nerveuses quittent l'épiphyse à des niveaux variables. Ils longent la lamelle basale et certains d'entre eux se myélinisent progressivement. Les troncs secondaires qui accompagnent la tige pinéale correspondent vraisemblablement à de tels faisceaux.

2° - Histogenèse de l'épiphyse chez Lacerta vivipara

Stade 28 : comme c'est le cas au niveau de l'oeil pariétal, au stade 27 de l'embryogenèse, deux catégories cellulaires sont identifiées grâce à la taille et à la forme de leur noyau. Elles représentent les cellules souches de type épendymaire et celles de la lignée sensorielle. Ces cellules s'insèrent toutes sur la lamelle basale et leur cytoplasme est riche en inclusions d'aspect lipidique.

Stade 29 : les deux types cellulaires s'allongent mais ils s'appliquent toujours contre la lamelle basale. Les cellules interstitielles sont caractérisées par un cytoplasme montrant une affinité tinctoriale légèrement plus faible au bleu de toluidine que celui des cellules de type sensoriel. Leur noyau, de petite taille et chromophile, se situe à proximité de la lamelle basale.

Les cellules de type sensoriel, possèdent un cytoplasme plus colorable. Leur corps cellulaire, pourvu d'un noyau volumineux et de forme ovoïde, se situe dans la région moyenne de l'épithélium.

Les deux catégories cellulaires apparaissent encore riches en inclusions d'aspect lipidique, plus particulièrement dans leur moitié apicale. De plus, certaines renferment des corps autophagiques (vérification faite en microscopie électronique).

Stade 30 : deux types cellulaires sont toujours identifiés dans l'ébauche épiphysaire. Les cellules interstitielles de type épendymaire conservent des caractères histologiques proches de ceux décrits au stade précédent. Elles sont observées sur toute la hauteur de l'épithélium (Pl. V, fig. 1).

Les cellules de type sensoriel n'offrent plus de contacts avec la lamelle basale (Pl. V, fig. 1). Elles sont piriformes, renflées au niveau du corps cellulaire et étirées jusqu'en bordure de la lumière épiphysaire.

Les deux catégories cellulaires contiennent encore de nombreuses inclusions d'aspect lipidique et des corps autophagiques (Pl. V, fig. 1).

Stade 31 : on reconnaît toujours les deux types cellulaires définis antérieurement : les cellules interstitielles de type épendymaire et les cellules de type sensoriel (Pl. V, fig. 2).

Dans l'épiphyse distale, au niveau de l'épithélium rostral, les ellipsoïdes des cellules de la lignée sensorielle font maintenant nettement saillie dans la lumière de l'organe (Pl. V, fig. 2).

Stade 32-33 : à partir du stade 32-33, trois catégories cellulaires constituent désormais l'épithélium épiphysaire. Il s'agit des cellules interstitielles de type épendymaire, des cellules de la lignée sensorielle et des neuroblastes (Pl. V, fig. 3).

Par rapport au stade précédent, l'aspect des cellules interstitielles de type épendymaire et des cellules de la lignée sensorielle reste inchangé. Signalons, cependant, que dans les différentes régions épiphysaires (distale, moyenne et proximale) le segment interne des cellules de type sensoriel fait saillie dans la lumière (Pl. V, fig. 3).

Des cellules volumineuses à cytoplasme clair et à noyau sphérique parfois légèrement échancré, occupent une position basale au sein de l'épithélium (Pl. V, fig. 3). Elles correspondent à des neuroblastes.

Stades 34 à 40 : les différents constituants de l'épithélium épiphysaire sont donc en place au stade 34 et, jusqu'au stade 40, ils acquièrent progressivement la structure rencontrée chez l'adulte.

Le cytoplasme des cellules interstitielles de type épendymaire reste relativement plus pâle que celui des cellules de type sensoriel, après coloration au bleu de toluidine (Pl. V, fig. 4 ; Pl. VI, fig. 1 à 5). Leur bordure apicale est nantie de fines expansions qui correspondent à des microvillosités et des cils (confirmation en microscopie électronique). Leur corps cellulaire ou leur prolongement basal sont attenants à la lamelle basale. Ils constituent une barrière épendymaire périphérique et continue (Pl. V, fig. 4 ; Pl. VI, fig. 3, 4 et 5).

Ces cellules s'amincissent dans la région moyenne de l'épithélium (zone qui renferme les corps cellulaires des cellules de la lignée sensorielle).

Leur noyau, à chromatine granuleuse répartie irrégulièrement, occupe des positions diverses au sein de l'épithélium (essentiellement sub-apicales ou basales).

Dès le stade 35, quelques cellules interstitielles de type épendymaire de l'épiphyse distale contiennent des granules

pigmentaires dont le nombre augmente progressivement jusqu'au stade 40. Les pigments se répartissent indifféremment dans les régions apicale, moyenne et basale des cellules interstitielles de l'épiphyse distale. A un stade embryonnaire donné, leur densité est sujette à des variations individuelles importantes. Cependant, leur localisation dans les cellules des zones distales épiphysaires, semble assez régulière.

Les cellules de la lignée sensorielle, grêles, ont des affinités tinctoriales au bleu de toluidine légèrement plus marquées que celles des autres types cellulaires épiphysaires (Pl. V, fig. 4 ; Pl. VI, fig. 1 à 5). Leur ellipsoïde fait nettement saillie dans la lumière de l'organe (Pl. V, fig. 4 ; Pl. VI, fig. 2, 3 et 4) et leur région apicale est pourvue d'une expansion ciliaire légèrement renflée et située en position latérale (Pl. VI, fig. 4). Il n'est pas possible, en microscopie photonique, de distinguer si ce prolongement représente un segment externe rudimentaire (COLLIN, 1967a, 1969a ; OKSCHE et KIRSCHSTEIN, 1968) ou un segment externe typique (COLLIN, 1968b, 1969a ; COLLIN et KAPPERS, 1971 ; OKSCHE et KIRSCHSTEIN, 1968 ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969a) en voie de différenciation. La cellule s'amincit au niveau de l'isthme puis s'élargit avec le myoïde et le corps cellulaire qui contient le noyau. Ce dernier, de forme ovoïde, est caractérisé par sa chromatine répartie de manière uniforme et son nucléole dense et volumineux, situé en position légèrement excentrée, parfois centrale. Le pédicule grêle de telles cellules n'a pu être observé en contact avec la lamelle basale.

Chez l'embryon de Lacerta vivipara, les neurones sensoriels se répartissent dans les zones distales, moyennes et proximales (Pl. VI ; fig. 1) alors que, chez l'immaturation et l'adulte, elles se localisent de préférence, dans l'épiphyse moyenne (ARIËNS KAPPERS, 1966, 1967 ; COLLIN, 1969a, chez l'adulte de Lacerta viridis). La "barrière épendymaire" définie antérieurement, les sépare de la lamelle basale (Pl. V, fig. 4 ; Pl. VI, fig. 3, 4 et 5). Ces cellules présentent des caractères histologiques très proches de ceux décrits dans l'épiphyse d'autres Lacertiliens (ARIËNS KAPPERS, 1966, 1967 ; COLLIN et

ARIËNS KAPPERS, 1968 ; COLLIN, 1969a). D'aspect très clair (cytoplasme et noyau) elles se présentent isolément ou en colonies. Leur noyau volumineux occupe la majeure partie du soma (Pl. V, fig. 4 ; Pl. VI, fig. 3, 4 et 5). Un ou deux nucléoles très denses, en position excentrée, contrastent avec la chromatine claire, répartie en un fin réseau. La mince couche cytoplasmique périnucléaire contient des inclusions rappelant la substance tigroïde. Celle-ci est plus particulièrement dense au niveau du cône d'émergence du prolongement axonique. Sur des coupes favorables on dénombre, au maximum, 2 prolongements par neurone sensoriel (Pl. VI, fig. 4). Les axones nus se regroupent en faisceaux intra-épithéliaux (Pl. VI, fig. 5) qui se dirigent vers la commissure postérieure.

Chez trois individus, nous avons dénombré -respectivement- aux stades 36, 38 et 39-40 du développement, 89, 96 et 79 neurones sensoriels. Ces éléments sont donc bien représentés chez l'embryon de Lacerta vivipara.

Le tractus pinéal n'est pas nettement marqué (Pl. II, fig. 6 ; Pl. III, fig. 8 ; Pl. VI, fig. 1). Jusqu'au stade 40, c'est un pédoncule relativement épais qui, même dans les régions adjacentes à l'épithalamus, renferme -outre des faisceaux d'axones- des cellules dont la nature est délicate à déterminer, en microscopie photonique. Sur coupes parasagittales et frontales nous n'avons pu identifier de fibre myélinisée. Par ailleurs, des faisceaux d'axones quittant l'épiphyse à d'autres niveaux (KAPPERS, 1967 ; COLLIN et KAPPERS, 1968) n'ont pas été retrouvés sur notre matériel.

C - Discussion

L'étude de l'histogenèse de l'oeil pariétal révèle, dès les stades 27 et 28, la présence de deux types cellulaires correspondant aux futurs photorécepteurs et cellules interstitielles de type épendymaire. Grâce à des coupes semi-fines, colorées au bleu de toluidine, nous parvenons à identifier des neuroblastes très précocement, à partir du stade 29. Au delà, les trois types cellulaires constituant la rétine, acquièrent

progressivement -jusqu'au stade 40- les caractéristiques de ceux de l'adulte (EAKIN et WESTFALL, 1959, 1960, 1961 ; OKSCHE et KIRSCHSTEIN, 1968 ; PETIT, 1968b ; EAKIN, 1973).

Le nerf pariétal se forme immédiatement après l'individualisation de l'oeil et antérieurement à la différenciation de la commissure habénulaire. Dès le stade 32, ce tractus de calibre important est constitué d'un nombre élevé d'axones amyéliniques (420, chez un individu étudié au stade 36, en microscopie électronique). Chez l'adulte, le nombre de ces axones semble varier selon l'espèce considérée (273, chez Sceloporus occidentalis selon EAKIN et WESTFALL, 1960 ; 638, chez Lacerta sicula ; 570, chez Lacerta vivipara selon OKSCHE et KIRSCHSTEIN, 1968 ; 371, chez Anguis fragilis, selon PETIT, 1968b).

L'origine du nerf pariétal a suscité des avis très contradictoires. Depuis les travaux d'EAKIN (1964), il est clairement établi que les fibres qui le constituent sont issues des neurones sensoriels localisés dans la rétine de l'oeil. En effet, après section du tractus les axones montrent une dégénérescence wallérienne, du côté épithalamique.

L'étude cytologique, effectuée en microscopie photonique, permet de conclure que les différents constituants de l'oeil pariétal adulte sont en place, chez Lacerta vivipara, à des stades précoces de la morphogenèse. En fin d'embryogenèse, l'oeil pariétal présente les mêmes caractères cytologiques que ceux de l'adulte.

Comme pour l'oeil pariétal l'étude de l'histogenèse de l'épiphyse fait apparaître, dès les premières phases de sa morphogenèse, deux types cellulaires qui représentent les cellules souches de la lignée sensorielle et de type épendymaire. Par contre, les neurones sensoriels, n'ont pu être identifiés que plus tardivement (stade 32). Bien que différée par rapport à celle de l'oeil pariétal, l'évolution des 3 types cellulaires de l'épithélium épiphysaire est similaire. Signalons cependant qu'en fin d'embryogenèse, les segments externes des photorécepteurs, au niveau de l'oeil, apparaissent déjà constitués d'empilements de membranes -correspondant vraisemblablement à des disques-

alors que dans l'épiphyse de telles formations n'ont pu être distinguées.

Cette différence est elle en rapport avec l'évolution plus tardive de l'épiphyse ou bien traduit-elle une régression des pôles récepteurs des cellules de la lignée sensorielle ?

Sur la base des seules observations photoniques, il est délicat de préjuger de l'état de différenciation sensorielle de l'épiphyse embryonnaire de Lacerta. En relation avec ce problème, il est nécessaire de considérer l'aspect cytologique des pôles photorécepteurs et neurotransmetteurs des cellules de type sensoriel et celui des neurones sensoriels pour préciser leur état de différenciation. Cette étude, de même que la recherche d'éventuels phénomènes sécrétoires dans les cellules de type sensoriel sont envisagés dans le paragraphe suivant.

II - CYTOGENESE DE L'EPIPHYSE

Nous envisageons, au cours de l'ontogenèse, l'étude ultrastructurale des différents constituants épiphysaires, en apportant une attention plus particulière à l'état de différenciation des cellules de la lignée sensorielle, des neurones sensoriels et des connexions qui peuvent s'établir entre ces deux types cellulaires. Ces critères sont en effet d'importance, comme l'a souligné COLLIN (1969a), pour apprécier le potentiel photorécepteur d'une épiphyse donnée.

Par ailleurs, les modalités d'une évolution de certaines cellules de la lignée sensorielle dans le sens d'une activité sécrétoire seront examinées.

En somme, l'étude ultrastructurale est fondamentale pour évaluer d'une part la fonction de l'épiphyse et pour introduire, d'autre part, nos investigations expérimentales.

A - Différenciation cellulaire de l'épiphyse distale

1° - Les cellules "interstitielles" de type épendymaire

Chez l'embryon de Lacerta vivipara, comme chez l'adulte d'autres Lacertiliens (COLLIN, 1967c, 1969a ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1968 ; PETIT, 1969) les cellules "interstitielles" de type épendymaire s'intercalent entre les cellules de la lignée sensorielle. Elles s'insèrent sur la lamelle basale et elles occupent toute la hauteur de l'épithélium. Leur noyau, de forme ovoïde, légèrement plus petit que celui des cellules de la lignée sensorielle, est en position basale ou subapicale dans la cellule. Sa chromatine, finement granuleuse, renferme un ou deux nucléoles très denses aux électrons.

Stades 30 et 31 : en bordure de la lumière épiphysaire, ces éléments se terminent au même niveau que les cellules de la lignée sensorielle (Pl. XI, fig. 1). La membrane plasmique n'a pas encore différencié de microvillosités ou de cils. Leur cytoplasme apparaît de densité équivalente à celui des cellules souches de la lignée sensorielle. Le chondriome ne présente pas de particularité notable ; les mitochondries sont dispersées dans l'ensemble du cytoplasme. L'ergastoplasme et les polysomes sont bien représentés dans toute la cellule. De nombreuses vacuoles lipidiques s'observent à différents niveaux cellulaires.

L'appareil de Golgi, en position supranucléaire, est orienté selon l'axe cellulaire. Les dictyosomes (1 ou 2) sont constitués par des saccules plats d'où se détachent des vésicules claires de taille variable (voir Pl. VII, fig. 1). Certaines d'entre elles de 2000 à 3000 Å de diamètre contiennent un petit noyau dense central ou légèrement excentré (Pl. VII, fig. 1 et 2) ; il s'agit vraisemblablement de pré-pigments. Sur certaines sections, les cellules "interstitielles" de type épendymaire apparaissent déjà richement pourvues de tels organites (Pl. XI, fig. 2). Les corps multivésiculaires sont bien représentés dans l'aire golgienne.

A ce stade, dans les cellules "interstitielles" de type épendymaire, mais également dans les cellules souches de la

lignée sensorielle, de volumineuses inclusions polymorphes (Pl. VII, fig. 3 ; Pl. XI, fig. 2), limitées par une membrane unitaire, sont observées à la base de l'épithélium. Dans ces vacuoles, remplies d'un matériel granulaire dense et de systèmes complexes de lamelles concentriques, évoluant en figures myéliniques, nous identifions également des inclusions lipidiques et des mitochondries en voie de dégénérescence (Pl. VII, fig. 3). Il s'agit des "corps autophagiques" déjà signalés dans des organes embryonnaires où de profonds remaniements cellulaires prennent place (PORTE, 1966).

Stade 32 : l'apex des cellules interstitielles, pourvu de quelques microvillosités, se termine maintenant à la hauteur de l'isthme des cellules de la lignée sensorielle dont le prolongement distal fait désormais saillie dans la lumière épiphysaire (Pl. XII, fig. 2 ; Pl. XIII).

Le cytoplasme des cellules "interstitielles" apparaît maintenant plus clair que celui des cellules de la lignée sensorielle (Pl. XII, fig. 2). Les vacuoles lipidiques, moins nombreuses, sont toujours bien représentées dans la région distale de la cellule.

Stades 33 et 34 : les "corps autophagiques" sont, à partir de ces stades, très rares. Néanmoins, ils se rencontreront de façon sporadique, tout au long de la vie embryonnaire.

Stades 35 à 40 : en bordure de la lumière épiphysaire, la cellule "interstitielle" a différencié de nombreuses microvillosités (Pl. VII, fig. 4 ; Pl. XVI, fig. 2), de même que quelques cils typiques de structure "9 + 1" (9 doublets périphériques plus un doublet central).

Le cytoplasme est ici nettement moins dense qu'au niveau des cellules de la lignée sensorielle (Pl. VII, fig. 4). Il renferme néanmoins de nombreux polysomes et des saccules ergastoplasmiques bien développés. D'autres organites cytoplasmiques : mitochondries, vésicules lisses du réticulum endoplasmique, corps multivésiculaires et microfilaments sont épars dans la cellule. L'appareil de Golgi, localisé dans la zone supranucléaire, est constitué par l'empilement régulier de saccules plats d'où dérivent quelques vésicules.

Les vacuoles lipidiques, bien représentées, sont regroupées dans la partie distale de la cellule (Pl. VII, fig. 4 ; Pl. XVI, fig. 2). Dans cette même région s'observent des granules pigmentaires qui, dès le stade 35, apparaissent bien différenciés ; certaines vacuoles, sphériques ou ovoïdes -de 6000 à 10 000 Å de diamètre- sont totalement remplies d'un matériel très opaque aux électrons (Pl. VII, fig. 5). Le nombre de ces organites augmente légèrement au cours de l'ontogenèse ; aux stades 38 à 40, ils peuvent se rencontrer par groupes de trois ou quatre. Néanmoins certaines cellules interstitielles en sont dépourvues.

3 jours après la naissance : les cellules interstitielles ont une ultrastructure comparable à celle observée en fin d'embryogenèse. Les pigments sont toujours bien moins nombreux que chez l'adulte.

Les cellules "interstitielles" de type épendymaire sont présentes dans tous les dérivés pariétaux étudiés jusqu' alors. Dans l'épiphyse (COLLIN, 1969a) et l'organe parapinéal (MEINIEL, 1971) des Pétromyzontoïdes, elles sont caractérisées par la présence de corps myéloïdes et de vacuoles cristallines. Dans l'épiphyse des Amphibiens (KELLY et SMITH, 1964 ; KELLY, 1965 ; UECK, 1968), elles renferment des corps myéloïdes et enfin, dans l'épiphyse et l'oeil pariétal des Reptiles, elles sont riches en granules pigmentaires.

Chez l'embryon de Lacerta, la genèse golgienne de vacuoles -qui se chargent d'un matériel dense aux électrons- ne peut être assimilée à un phénomène sécrétoire du type de celui observé au niveau des cellules de la lignée sensorielle (voir ultérieurement). La taille de ces vacuoles, pouvant atteindre plus de 1 µm de diamètre, et l'aspect de leur contenu sont caractéristiques de la genèse de granules pigmentaires.

La seule étude ultrastructurale de ces cellules, au cours de l'ontogenèse, est insuffisante pour déterminer avec certitude leur rôle. Néanmoins, ces cellules semblent être impliquées dans le captage de petites molécules, comme des

précurseurs indoliques (MEINIEL, COLLIN et HARTWIG, 1973 et Chapitre IV), qu'elles pourraient transmettre directement aux éléments sensoriels.

On peut suggérer avec COLLIN (1969a), que les cellules "interstitielles" de type épendymaire interviennent dans des phénomènes d'échanges entre le milieu interne et l'organe pinéal. Elles représentent vraisemblablement des satellites nécessaires aux cellules de la lignée sensorielle et aux neurones sensoriels, mais elles ne semblent pas jouer un rôle primordial dans les différentes fonctions épiphysaires.

2° - Les cellules de la lignée sensorielle

Dans l'épiphyse adulte de Lacerta, ont pu être identifiés (COLLIN, 1968b), plus particulièrement, des photorécepteurs typiques (rares) et des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires mais également des types cellulaires intermédiaires. Ils appartiennent aux "cellules de la lignée sensorielle" (CLS : COLLIN, 1969a). Ce concept, généralement admis à l'heure actuelle, fut établi à la suite d'études cytophysiologiques comparées de l'organe pinéal des Vertébrés. Le photorécepteur typique (bien représenté chez les Anamniotes) est le type cellulaire primordial (COLLIN, 1969a). Au cours de l'évolution il cède peu à peu la place aux photorécepteurs rudimentaires (surtout chez les Sauropsidés) puis aux pinéalocytes (chez les Ophidiens et les Mammifères). Ces trois types cellulaires et les intermédiaires sont homologues (COLLIN, 1971, 1976 ; PEVET et COLLIN, 1976).

Les photorécepteurs rudimentaires sécrétoires des Sauropsidés correspondent à des cellules sensorielles dont les pôles transducteurs et neurotransmetteurs ont subi au cours de la phylogenèse une rudimentation. Chez l'adulte de Lacerta, une intense activité sécrétoire golgienne (COLLIN, 1967a, c, 1969a, 1971 ; COLLIN et KAPPERS, 1968 ; OKSCHE et KIRSCHSTEIN, 1968 ; OKSCHE, 1970, 1971 ; OKSCHE, UECK et RÜDEBERG, 1971 ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1968, 1969b) caractérise ce type cellulaire.

L'ontogenèse pouvant retracer la phylogenèse, il était donc, intéressant de tenter de saisir, de façon directe, chez

l'embryon de Lacerta vivipara, les étapes de la différenciation et de la rudimentation des photorécepteurs. De telles données sont très importantes pour consolider le concept de "cellules de la lignée sensorielle".

Pour la facilité de l'exposé, nous commencerons par présenter les cellules de la lignée sensorielle 3 jours après la naissance.

a) Les cellules de la lignée sensorielle, 3 jours après la naissance

α - Les photorécepteurs typiques (cellules P)

Les cellules photoréceptrices dans l'organe pinéal des Vertébrés présentent une architecture classique qui rappelle celle des photorécepteurs des yeux latéraux. Elles se composent de quatre régions : le segment externe (qui se projette dans la lumière de l'organe), le segment interne (qui relie le segment externe au corps cellulaire et qui contient l'ellipsoïde, l'isthme et le myoïde), le corps cellulaire et le pédicule synaptique.

. *Le segment externe*

Le segment externe, dérivé ciliaire (9 + 0), est pourvu de disques (50 sur les préparations les plus favorables) régulièrement empilés et "ouverts" sur la lumière épiphysaire (Pl. X, fig. 1 et 2). Dans la massue ciliaire, contenant les 9 doublets de tubules issus du centriole distal, nous rencontrons fréquemment des corps vésiculaires ou multivésiculaires (Pl. X, fig. 1 et 2). Le segment externe est relié au segment interne par le segment connectif.

. *Le segment interne*

Le segment interne fait nettement saillie dans la lumière épiphysaire. En position distale, se trouve le diplosome. Des

racines à striations périodiques sont annexées au centriole proximal.

L'ellipsoïde : les mitochondries de l'ellipsoïde sont réparties de part et d'autre de l'isthme. Leur matrice bien développée apparaît dense après double fixation glutaraldéhyde-acide osmique (Pl. X, fig. 3).

L'isthme : est marqué par un rétrécissement distal (ou cou cellulaire) du segment interne. A ce niveau, le photorécepteur présente, avec les cellules avoisinantes, des zonules d'adhésion. Dans cette région, les microtubules sont nombreux et orientés selon l'axe cellulaire.

Le myoïde : le myoïde renferme l'appareil de synthèse et de sécrétion protéique (sacculles ergastoplasmiques, polysomes et appareil de Golgi). Les dictyosomes sont constitués de sacculles courts et plats dont les extrémités bourgeonnent des vésicules claires peu nombreuses.

. *Le corps cellulaire*

Le corps cellulaire contient un noyau de forme régulière et ovoïde dont la chromatine est répartie régulièrement et dans laquelle un nucléole dense occupe une position excentrée.

. *Le pédicule basal*

Il contient essentiellement des microtubules, quelques mitochondries, de rares grains denses d'un diamètre moyen de 1000 Å et dans ses régions tout à fait proximales, des vésicules claires de 200 à 500 Å de diamètre correspondant à des vésicules synaptiques. Il renferme également des rubans synaptiques localisés face à un prolongement dendritique. Ces contacts synaptiques sont étudiés en détail dans le paragraphe 4.

Ces pédicules basaux ne reposent jamais sur la lamelle basale, mais ils constituent avec les dendrites des neurones sensoriels intra-épithéliaux, une zone plexiforme unique et basale.

β - Les photorécepteurs rudimentaires sécrétoires
(PRS)

Ces cellules, plus nombreuses que les photorécepteurs typiques, présentent la même architecture.

. *Le segment externe rudimentaire*

Il s'agit d'une expansion cytoplasmique, limitée par la membrane plasmique, qui renferme de très nombreuses structures vésiculaires, multivésiculaires et lamellaires ainsi que des corps denses (Pl. X, fig. 4 et 5). Neuf doublets de tubules issus du centriole distal -localisé dans la région distale du segment interne- se prolongent dans le segment externe rudimentaire. Parfois, à différents niveaux de l'article externe, s'observent des replis de la membrane plasmique (Pl. X, fig. 4 et 5). Ces images pourraient correspondre à la persistance de quelques disques.

. *Le segment interne*

L'ellipsoïde : les mitochondries de l'ellipsoïde (Pl. X , fig. 5), localisées dans les régions distale et proximale de l'isthme, présentent les mêmes caractères cyto- logiques que ceux décrits au niveau de l'ellipsoïde des photo- récepteurs typiques.

L'isthme : riche en microtubules orientés selon l'axe cellulaire, il présente des zonules d'adhésion avec les cellules avoisinantes.

Le myoïde : les formations ergastoplasmiques et ribosomales ont ici une extension plus importante que dans les cellules photoréceptrices. Certains P.R.S., au niveau du myoïde et de l'ellipsoïde, montrent des saccules ergastoplasmiques hypertrophiés. L'appareil de Golgi, constitué de plusieurs dictyosomes, présente des signes d'une intense activité sécrétoire; des saccules golgiens dérivent de nombreuses vésicules claires de taille variable. Certaines d'entre elles se chargent d'un

matériel dense aux électrons et constituent les grains denses de sécrétion, dont le diamètre peut atteindre 2500 Å. De tels grains s'accumulent dans des régions variées (voir ultérieurement).

. *Le corps cellulaire*

Il renferme un noyau ovoïde tout à fait comparable à celui des photorécepteurs. La couche cytoplasmique périnucléaire est riche en grains denses de sécrétion.

. *Le pédicule basal*

Il entre en contact avec la lamelle basale (Pl. XXIII, fig. 3) et contient, outre de très nombreux grains de sécrétion, des rubans circonscrits par des vésicules claires de 200 à 500 Å de diamètre ou par des grains denses (=RCV COLLIN, 1968a). Ces rubans, en position atypique dans la cellule, sont étudiés dans le paragraphe 4.

En résumé : les deux types fondamentaux de cellules sensorielles, identifiées chez l'animal adulte, sont donc en place au 3ème jour qui suit la naissance. Ils possèdent des caractères cytologiques très voisins de ceux décrits chez Lacerta viridis et muralis adultes (COLLIN, 1969a, 1971).

b) Différenciation des cellules de la lignée sensorielle

Pour nous placer dans des conditions strictement identiques, nos observations ont été réalisées, à tous les stades embryonnaires, dans la région tout à fait apicale de l'épiphyse, c'est-à-dire la mieux différenciée.

a - Les segments externes (Fig. 6).

Stade 30 : le diplosome est localisé au fond d'une petite dépression, apparue à l'apex du segment interne (Pl. VIII, fig. 1). La poussée des doublets de tubules, issus du centriole

distal, provoque ensuite une évagination de la membrane plasmique (Pl.VIII, fig.1), marquant ainsi le début de la genèse du segment externe.

Stades 31 et 32 : les doublets de tubules issus du centriole distal se sont allongés par rapport au stade précédent (Pl.VIII, fig.2). Le segment externe, de faible diamètre, régulier sur toute sa longueur, rappelle un cil, néanmoins modifié par sa composition en doublets (9 + 0).



Fig. 6. Ultrastructure des segments externes à différents stades de l'embryogenèse.

Stades 33 et 34 : dans sa partie distale, l'article externe, se renfle légèrement, et prend la forme d'une massue. Les doublets de tubules (soit neuf périphériques, soit huit périphériques + un central) s'évasent légèrement.

Stades 35 et 36 : le renflement affecte maintenant toute la longueur du segment externe, jusqu'au segment connectif (Pl. VIII, fig. 3). Les contours du segment externes deviennent irréguliers. Dans le hyaloplasme, en position apicale, quelques structures vésiculaires ou multivésiculaires sont observées.

Stade 37 : l'irrégularité des contours du segment externe s'accentue (Pl. VIII, fig. 4). Les structures vésiculaires et multivésiculaires sont plus nombreuses à l'apex et dans l'axe longitudinal du segment externe.

Stade 38 : d'un même côté, deux ou trois évaginations de la membrane plasmique, perpendiculaires à l'axe ciliaire, suggèrent la genèse de saccules ou disques (Pl. VIII, fig. 5). Le nombre de vésicules et de corps multivésiculaires s'est légèrement accru dans les régions distale et moyenne du segment externe.

Stade 39 : le nombre de disques a augmenté à la base du segment externe (Pl. VIII, fig. 6). Certains segments externes présentent jusqu'à 12 disques, ouverts sur la lumière épiphy-saire. Les vésicules et corps multivésiculaires sont plus nombreux qu'aux stades précédents.

Stade 40

Segments externes réguliers (Pl. IX, fig. 1) : le nombre de disques, toujours de type "ouvert" est plus important qu'au stade 39 (jusqu'à 32 sur les préparations les plus favorables). Dans la plupart des cas, l'apex du segment externe présente les mêmes caractéristiques qu'aux stades précédents : présence de structures vésiculaires et multivésiculaires.

Segments externes irréguliers : certains segments externes montrent une vacuolisation parfois importante : les disques se fragmentent ou bien encore perdent leur relation avec la membrane plasmique et se dilatent plus ou moins fortement (Pl. IX, fig. 3 et 4).

D'autres conservent encore, à la base du segment externe, leur arrangement régulier de disques, mais ils sont surmontés d'un renflement terminal très développé, qui contient de nombreuses structures vésiculaires (Pl. IX, fig. 2).

β - Le segment interne

. *L'ellipsoïde et l'isthme*

Stades 30 et 31 : à ces stades, l'ellipsoïde n'est pas encore différencié (Pl. XI, fig. 1). La région apicale des cellules souches de la lignée sensorielle fait très légèrement saillie dans la lumière de l'organe. On y distingue des organites cellulaires épars (mitochondrie, réticulum rugueux et lisse) et de très nombreuses inclusions lipidiques (Pl. XI, fig. 1).

La région de l'isthme est encore peu marquée, mais la cellule présente, à ce niveau, des zonules d'adhésion avec les cellules avoisinantes (Pl. XI, fig. 1).

Stades 32 à 40 : la région apicale des cellules de type photorécepteur fait maintenant nettement saillie dans la lumière de l'organe (Pl. XII, fig. 2 ; Pl. XIII ; Pl. XVI, fig. 2 ; Pl. XVII). L'ellipsoïde est bien différencié de part et d'autre de l'isthme (voir Pl. XIII) ; les nombreuses mitochondries, rondes ou ovalaires et à matrice dense, sont accompagnées d'un réticulum rugueux et de nombreux polysomes. Certains saccules ergastoplasmiques sont hypertrophiés et remplis d'un matériel de densité moyenne aux électrons. Les vacuoles lipidiques sont nombreuses dans cette région cellulaire.

L'isthme, maintenant marqué par un étranglement de la cellule, est riche en microtubules, orientés selon l'axe cellulaire (voir Pl. XIII).

. *Le myoïde*

L'ergastoplasme et les polysomes

Stades 30 et 31 : le myoïde n'est pas encore différencié

(Pl. XI, fig. 1). Les saccules ergastoplasmiques, relativement courts et peu nombreux, de même que les polysomes, sont répartis dans l'ensemble des cellules souches de la lignée sensorielle.

Stades 32, 33 et 34 : l'appareil de synthèse protéique se regroupe essentiellement dans la région supranucléaire (Pl. XIII). Les saccules ergastoplasmiques, encore peu développés, sont plus nombreux qu'aux stades précédents. A ce niveau, on note également la présence de concentrations importantes de polysomes.

Stades 35 à 40 : le myoïde est alors bien différencié (Pl. XV, fig. 1 ; Pl. XVI, fig. 2 ; Pl. XVII); les saccules ergastoplasmiques bien développés, sont localisés dans la région supranucléaire. Ils s'orientent selon l'axe cellulaire (Pl. XV, fig. 1) ou bien épousent la forme du noyau (Pl. XVII). Les polysomes sont toujours très nombreux, dans cette région cellulaire.

L'appareil de Golgi

Stades 30 et 31 : dans toutes les CLS, l'appareil de Golgi, orienté selon l'axe cellulaire, est formé de quelques saccules aplatis (Pl. XI, fig. 1). Il ne présente pas de signe d'activité sécrétoire nette.

Stade 32 : un petit nombre de CLS montre un appareil de Golgi dont les saccules sont légèrement hypertrophiés et de nombreuses vésicules claires s'en détachent (Pl. XIII). Dans l'aire golgienne de ces CLS, nous avons pu identifier un ou deux grains denses (Pl. XIII).

Stades 33 et 34 : le nombre des CLS, caractérisées par un appareil de Golgi montrant des signes d'activité sécrétoire, augmente.

Stades 35 à 40 : à partir du stade 35, s'observe une nette différence quant à l'activité sécrétoire golgienne : certaines CLS (CLS₁) conservent un appareil de Golgi ne présentant pas de signe de sécrétion active. Cependant, la plupart des CLS (CLS₂) montrent un appareil de Golgi bien développé, dont les dictyosomes s'organisent en figures annulaires. De leurs saccules hypertrophiés dérivent de très nombreuses vésicules

claires ainsi que des grains denses de sécrétion (Pl. XV, fig. 2 ; Pl. XVI, fig. 2). L'activité sécrétoire (et/ou de stockage) des CLS₂ augmente du stade 35 au stade 40, si l'on en juge au nombre croissant de grains denses, observés dans l'aire golgienne ou stockés dans les pédicules basaux (voir ultérieurement).

Les grains de sécrétion

Ils ont un coeur dense aux électrons, circonscrit par un halo clair que limite une membrane unitaire (capsule golgienne). Leur taille augmente progressivement du stade 32 au stade 40 de l'embryogenèse (Tableau I).

TABLEAU I

DIMENSIONS DES GRAINS DENSES AU COURS DE L'ONTOGENESE

Stades	32	34	36	37	38	39	40
	600 Å à 1100 Å	600 Å à 1100 Å	600 Å à 1200 Å	600 Å à 1200 Å	600 Å à 1600 Å	600 Å à 1900 Å	600 Å à 2500 Å
Ø moyen	960 Å	980 Å	1050 Å	1100 Å	1250 Å	1500 Å	1700 Å

Les inclusions lipidiques

Quels que soient le stade embryonnaire et le type cellulaire considérés, les vacuoles lipidiques sont toujours bien représentées dans le myoïde.

γ - Le corps cellulaire

. Le noyau

Aux stades embryonnaires envisagés dans cette étude,

toutes les CLS sont pourvues d'un noyau ovoïde dont la chromatine, répartie régulièrement, contient un ou deux nucléoles denses en position excentrée (voir Pl. XII, fig. 2 ; Pl. XV, fig. 1).

. le cytoplasme périnucléaire

Dans la couche cytoplasmique périnucléaire, quel que soit le stade embryonnaire étudié, se rencontrent, dans toutes les CLS, quelques mitochondries, des vésicules lisses du réticulum endoplasmique, des saccules ergastoplasmiques et des polysomes.

Dans les CLS₂, outre les organites précédemment cités, le cytoplasme périnucléaire renferme également, dès le stade 35, quelques grains denses de sécrétion d'origine golgienne. Du stade 35 au stade 40, le nombre des grains denses, dans cette région cellulaire, augmente légèrement.

8 - Les pédicules basaux

Stades 30, 31 et 32 : relativement trapus (Pl. XIV, fig. 1), ils présentent quelques organites cellulaires épars (mitochondries, saccules ergastoplasmiques, polysomes et vésicules lisses du réticulum endoplasmique). Ils ne sont jamais observés en contact avec la lamelle basale.

Stade 33 : le pédicule basal s'affine (Pl. XIV, fig. 2) et renferme parfois, outre les organites cellulaires cités précédemment, quelques grains denses d'origine golgienne (en moyenne 20/100 μ^2m , Fig. 7 ; Tableau II).

Stade 34 : les pédicules basaux contenant des grains denses sont plus nombreux à la base de l'épithélium. D'autre part, ils apparaissent plus riches en grains denses de sécrétion (en moyenne 43/100 μ^2m , Fig. 7 ; Tableau II).

Stades 35 à 40 : à partir du stade 35, on distingue aisément deux types de pédicules basaux (Pl. XVIII, fig. 1).

Certains, relativement rares et appartenant à des CLS₁, contiennent essentiellement des microtubules et dans leurs

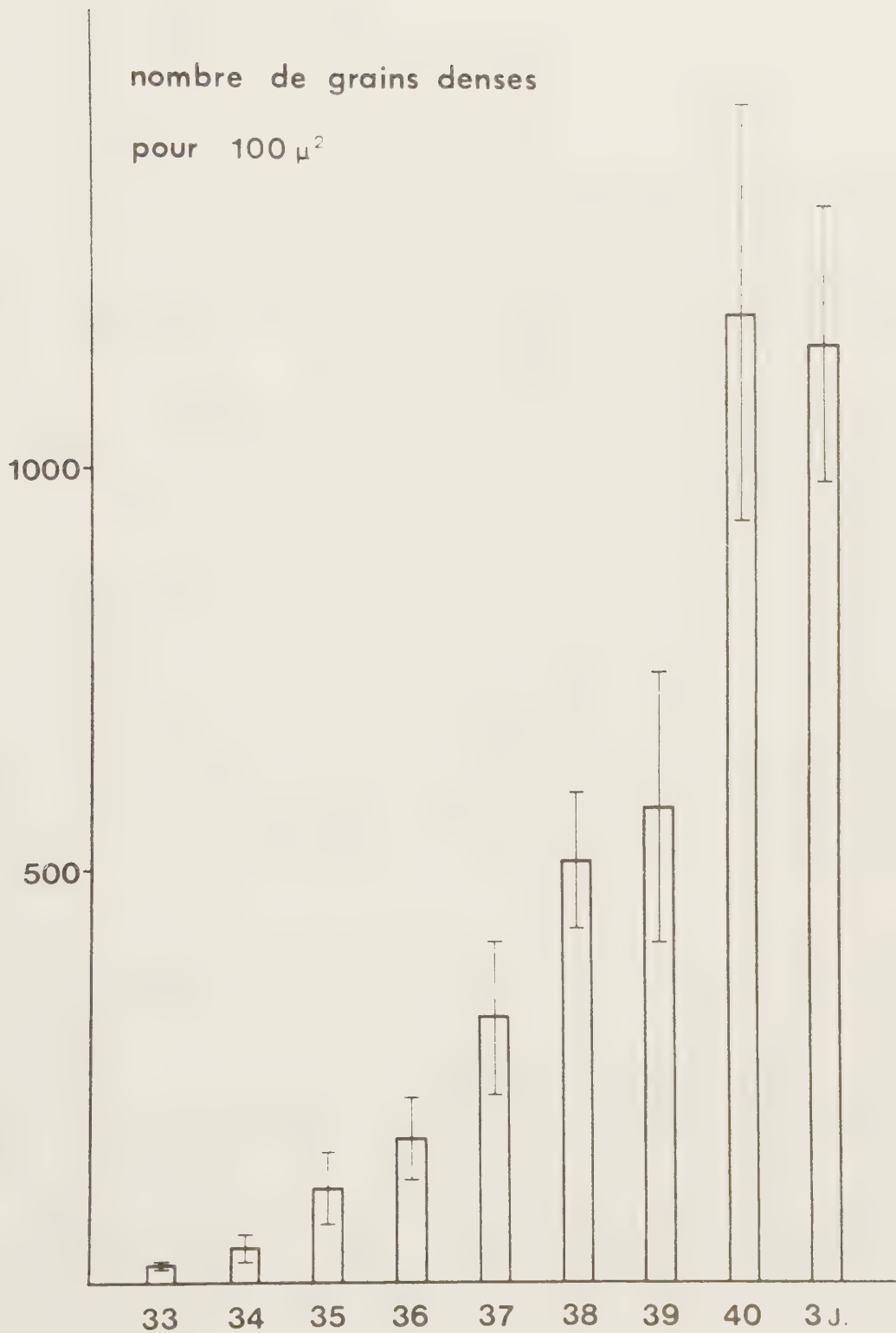


Fig. 7. Représentation de la moyenne des concentrations de grains denses dans les pédicules basaux des PRS, aux différents stades de l'ontogenèse (stades 33 à 40) et 3 jours après la naissance.

TABLEAU II

Stades	Nombre de grains denses pour $100\mu^2$ de pédicules basaux $m \pm \sigma$	test de la variable "t" de Student
33	20 ± 6	XX
34	43 ± 18	XX
35	118 ± 45	X
36	174 ± 49	XX
37	319 ± 94	XX
38	514 ± 84	0
39	578 ± 167	XX
40	1192 ± 257	0
3j	1154 ± 171	

m = moyenne des mesures

σ = écart type à la moyenne

Signification statistique par analyse selon le test "t" de Student :

0 = non significatif

X = significatif avec un coefficient de sécurité $\geq 95\%$

XX = significatif avec un coefficient de sécurité $\geq 99\%$

régions proximales, des vésicules claires de 200 à 500 Å de diamètre ; celles-ci rappellent des vésicules synaptiques. On note la présence de très rares grains denses de 1000 Å de diamètre moyen (Pl. XVIII, fig. 1). A partir du stade 37, des rubans synaptiques sont observés en position typique, face à un prolongement dendritique (voir paragraphe 4).

Ces pédicules basaux ne s'appliquent jamais contre la lamelle basale mais, dès le stade 37, ils constituent avec les dendrites des neurones sensoriels, une zone plexiforme unique et basale (voir paragraphe 4).

Les autres pédicules basaux, plus nombreux et appartenant à des CLS₂ apparaissent essentiellement riches en grains denses (Pl. XV, fig. 3 ; Pl. XVIII, fig. 1 et 2). Ils représentent, au cours de l'ontogenèse, la principale, sinon l'unique zone de stockage des grains de sécrétion. Le nombre de grains stockés, à ce niveau, croît de façon très significative au cours de l'ontogenèse (Fig. 7 ; Tableau II). Dans ces prolongements basaux, des rubans, circonscrits par des vésicules claires de 200 à 500 Å de diamètre ou par des grains denses, s'observent à partir du stade 38. Une étude particulière leur est consacrée (voir paragraphe 4). Les pédicules basaux des CLS₂ se terminent à la hauteur de la zone plexiforme (ou de la future zone plexiforme stades 35 et 36). Bien qu'aux stades 39 et 40, on assiste à un allongement des pédicules basaux en direction de la lamelle basale, ceux-ci sont toujours séparés des espaces péricapillaires par une barrière épendymaire établie par les corps cellulaires ou les prolongements basaux des cellules interstitielles (Pl. XVIII, fig. 2).

En résumé : dans l'épiphyse distale, les segments externes des C.L.S. différencient tous des disques (à partir du stade 38).

Dès le stade 32, une activité sécrétoire, représentée par la genèse golgienne de grains denses, caractérise certaines C.L.S. Le nombre des grains de sécrétion, stockés au niveau des pédicules basaux, augmente de façon hautement significative au cours de l'ontogenèse.

L'absence d'une telle activité sécrétoire, au niveau de quelques C.L.S., tout au long de la vie embryonnaire, laisse présager de l'existence d'au moins deux types cellulaires appartenant aux C.L.S.. Néanmoins la définition d'une pluralité des C.L.S., au cours de l'ontogenèse, ne sera abordée qu'ultérieurement, après avoir envisagé l'étude des relations qui s'établissent entre ces cellules et les neurones sensoriels (paragraphe 4).

3° - Différenciation des neurones sensoriels

Les neurones sensoriels assurent la conduction d'un message d'origine photique, en provenance des photorécepteurs, vers des structures centrales encore indéterminées malgré l'important travail de KAPPERS (1967). La présence d'une innervation sensorielle pinéalofuge bien différenciée est donc importante pour apprécier l'activité photoréceptrice d'une épiphyse donnée (COLLIN, 1969a).

Chez les Lacertiliens adultes, en relation avec la régression du potentiel photorécepteur de l'épiphyse, le nombre des neurones sensoriels est très réduit (KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1969a ; PETIT, 1969). Par contre, dans l'épiphyse embryonnaire de Lacerta vivipara, nous avons vu (paragraphe 1) que ces cellules étaient bien représentées. Il restait cependant à préciser, leur état de différenciation cytophysiologique.

Stades 30 et 31 : quelques cellules de forme ovoïde (Pl. XIX, fig. 1) ont été décelées à la base de l'épithélium épiphysaire, plus précisément dans une zone comprise entre les pédicules basaux des CLS et la "barrière épendymaire". Leur cytoplasme et leur noyau apparaissent légèrement plus clairs que ceux des types cellulaires précédemment étudiés. Encore peu différenciées, elles renferment quelques organites cytoplasmiques épars (Pl. XIX, fig. 1). Aucun prolongement, pouvant correspondre à des axones ou à des dendrites, n'a pu être observé en relation avec un corps cellulaire. L'évolution ultérieure de ces cellules suggère qu'elles correspondent à des neuroblastes.

Stades 32 et 33 : les neuroblastes acquièrent l'aspect caractéristique des neurones sensoriels. Désormais, un prolongement, vraisemblablement de nature axonique, émerge du corps cellulaire (Pl. XIX, fig. 2).

Le corps cellulaire : la majeure partie du soma est occupée par un noyau de forme régulière, en position légèrement excentrée (Pl. XIX, fig. 2). Dans les pérıkaryons, les saccules ergastoplasmiques se développent et les polysomes sont maintenant

nombreux. Ils constituent les corps de Nissl, plus particulièrement abondants, au niveau du cône d'émergence du prolongement axonique (Pl. XIX, fig. 2). Dans cette même région cellulaire, quatre ou cinq dictyosomes coiffent le noyau (Pl. XIX, fig. 2). De leurs saccules hypertrophiés, dérivent de nombreuses vésicules claires. Des lysosomes parsèment fréquemment l'aire golgienne. De rares grains denses, de 1000 Å de diamètre moyen, se dispersent à différents niveaux du périkyon (Pl. XIX, fig. 2). Le nombre de mitochondries augmente.

Les prolongements axoniques : dès le stade 32, des faisceaux de prolongements nerveux montrent, à la base de l'épithélium épiphysaire, la même localisation que celle définie pour les corps cellulaires des neurones sensoriels.

Ces prolongements de nature axonique, apparaissent très clairs et renferment presque exclusivement des microtubules. D'autres organites, tels que des mitochondries, des saccules du réticulum endoplasmique, des polysomes et des grains denses de 1000 Å de diamètre moyen les caractérisent également.

Stades 34 à 40 : les neurones sensoriels apparaissent maintenant bien différenciés (Pl. XX, fig. 1 et 2 ; Pl. XXI, fig. 1 ; Pl. XXII, fig. 1).

Le corps cellulaire : le noyau de forme sphérique ou légèrement ovoïde, généralement localisé à un pôle cellulaire (Pl. XX, fig. 1 et 2 ; Pl. XXII, fig. 1), possède une chromatine répartie en un réseau très lâche, et contient un ou 2 nucléoles denses. La face externe de l'enveloppe nucléaire, richement bordée de ribosomes, s'observe fréquemment en continuité avec de longs saccules ergastoplasmiques. Les corps de Nissl ont une large extension dans tout le périkyon, mais ils sont particulièrement abondants dans la région somatique ou émerge l'axone. A ce niveau, l'appareil de Golgi est également bien développé (Pl. XX, fig. 2) et constitué de nombreux dictyosomes (4, 5 voire même 6 sur les préparations les plus favorables). Leurs saccules sont hypertrophiés et de nombreuses vésicules claires s'en détachent. Certains d'entre eux façonnent de petits grains denses de 1000 Å de diamètre moyen. Des corps multivésiculaires et des lysosomes se rencontrent fréquemment

dans l'aire golgienne. Les mitochondries sont maintenant nombreuses dans tout le périakaryon. Le cytoplasme périnucléaire renferme, en outre, des vacuoles lipidiques, des neurotubules et de rares grains denses d'origine golgienne. Le glycogène, sous forme de particules α , constitue des plages réduites. Quelques saccules du réticulum s'appliquent contre la membrane neuroplasmique ; ils représentent les classiques "subsurface cisterns" (ROSENBLUTH, 1962). Les neurones sensoriels, chez l'embryon, possèdent également un cil, relativement court, dont la structure (sur coupe transversale) n'a pu être observée. Le diplosome se situe à la hauteur de l'aire golgienne.

Les prolongements axoniques (Pl. XX, fig. 2) : au niveau de leur cône d'émergence, on note généralement la présence d'une forte concentration de polysomes. De calibre élevé, ces prolongements s'enrichissent en neurotubules et neurofilaments. Ils contiennent également, à certains niveaux, quelques mitochondries, du réticulum endoplasmique et des polysomes. Leur regroupement, à la base de l'épithélium, aboutit à la formation de nombreux faisceaux nerveux (Pl. XX, fig. 2), à l'origine d'une partie ou de la totalité du tractus épiphysaire.

Les expansions dendritiques (Pl. XXI, fig. 1 et 2 ; Pl. XXII, fig. 1 et 2) : d'autres prolongements, issus du soma et venant en contact avec certaines C.L.S., représentent des dendrites. Des concentrations de ribosomes, telles que celles décrites au niveau du cône d'émergence des axones, ne se rencontrent pas dans la partie proximale de ces prolongements. Par rapport aux axones, les procès dendritiques sont plus fins et plus courts. Ils peuvent renfermer des neurotubules et des neurofilaments, mais ils apparaissent plus riches en organites cellulaires (mitochondries, saccules du réticulum, ribosomes, particules de glycogène α et de rares grains denses de 1000 à 1300 Å) que les prolongements axoniques.

3 jours après la naissance : l'aspect cytologique des neurones sensoriels (Pl. XXIII, fig. 1) et de leurs prolongements est identique à celui décrit en fin d'embryogenèse.

En résumé : dès le stade 34, les neurones sensoriels montrent des caractères cytologiques bien différenciés. Aux stades considérés dans cette étude, aucun signe de dégénérescence de ces éléments ne traduit une régression de l'innervation sensorielle. Il reste maintenant à envisager le problème important de la différenciation des contacts synaptiques qui s'établissent entre les C.L.S. et ce type d'innervation.

4° - Rapports des cellules de la lignée sensorielle avec les dendrites des neurones sensoriels

a) 3_jours_après_la_naissance

α - Les_synapses

Le contact synaptique s'établit entre le pédicule basal des photorécepteurs typiques et les dendrites des neurones sensoriels.

. *La région présynaptique*

Le pédicule basal des photorécepteurs se caractérise essentiellement par la présence d'organites typiques des zones présynaptiques (Pl. XXIII, fig. 1 et 2) : vésicules claires sphériques ou légèrement ovoïdes de 200 à 500 Å de diamètre, concentrées dans la région proximale du pédicule synaptique) et rubans synaptiques (relativement longs par rapport à ceux de l'embryon : voir ultérieurement). Entre l'extrémité du ruban et la membrane présynaptique, nous observons une condensation de matériel correspondant à la zone de densification présynaptique (ou "densification arciforme") (Pl. XXIII, fig. 2).

. *La région postsynaptique*

La terminaison dendritique, appartenant aux neurones sensoriels, se distingue par un cytoplasme clair ; ses éléments figurés ont été décrits antérieurement (paragraphe 2).

S'appliquant contre la membrane postsynaptique -en face de la "densification arciforme"- un mince liseré cytoplasmique

dense représente la densification postsynaptique.

Des contacts synaptiques s'établissent également avec le corps cellulaire des neurones sensoriels (Pl. XXIII, fig. 1 et 2).

β - La régression synaptique

Des rubans circonscrits de vésicules claires de 200 à 500 Å de diamètre et de grains de sécrétion d'origine golgienne (= RCV, COLLIN, 1968a) sont fréquemment observés en position atypique dans des pédicules basaux de P.R.S.. La proximité de ces rubans avec la membrane plasmique est facultative. De plus, lorsqu'ils jouxtent la membrane plasmique, ils avoisinent un autre prolongement basal de P.R.S. ou bien une cellule interstitielle de type épendymaire. Lors de tels rapports, au point d'affrontement du ruban avec la membrane plasmique, une zone dense rappelle la densification arciforme des connexions synaptiques typiques. Lorsque les rubans sont contigus à la lamelle basale (Pl. XXIII, fig. 3), on note également à l'extrémité du ruban une zone de densification cytoplasmique.

La régression synaptique s'accompagne de l'allongement du pédicule basal qui acquiert une polarité vasculaire et repose très fréquemment sur la lamelle basale (Pl. XXIII, fig. 3).

b) Au cours de l'ontogenèse

α - Les rapports synaptiques typiques

Stade 37 : à ce stade, seuls deux rubans synaptiques très courts ont pu être identifiés dans des prolongements de C.L.S.₁ (Pl. XX, fig. 3). Les vésicules synaptiques sont relativement rares et regroupées au voisinage du ruban (Pl. XX, fig. 3). Ce dernier se localise face à un prolongement dendritique (Pl. XX, fig. 3) dont les caractères cytologiques sont comparables à ceux décrits 3 jours après la naissance. La densification présynaptique est nettement marquée alors

que la densification postsynaptique semble faire défaut (Pl. XX, fig. 3).

Stades 38 et 39 : les contacts synaptiques, présentent des caractéristiques cytologiques proches de celles décrites au stade 37, mais ils sont nettement plus nombreux.

Stade 40 : la région présynaptique s'enrichit en vésicules synaptiques (Pl. XXI, fig. 3). D'autre part, elle renferme de rares grains denses de 1000 Å de diamètre moyen (Pl. XXI, fig. 3). Certaines vésicules synaptiques s'arrangent régulièrement autour du ruban (Pl. XXI, fig. 3), toujours très court.

Les densifications pré et postsynaptiques sont souvent bien marquées (Pl. XXI, fig. 3). Certains pédicules basaux de C.L.S.₁ entrent en contact synaptique avec des prolongements dendritiques, observés en relation avec le corps cellulaire du neurone sensoriel (Pl. XXI, fig. 1 et 2 ; Pl. XXII, fig. 1 et 2).

β - La régression synaptique

Stades 38, 39 et 40 : des rubans circonscrits de vésicules claires de 200 à 500 Å de diamètre et de grains denses d'origine golgienne -souvent plus longs que les rubans synaptiques (comparer les fig. 2 et 3 de la Pl. XXII)- s'observent, dès le stade 38 de l'embryogenèse, dans des pédicules basaux essentiellement riches en grains denses et appartenant à des C.L.S.₂. Ces rubans, relativement nombreux, ne montrent pas de contact avec des membranes (Pl. XXII, fig. 3) ou bien, ils se placent soit face à un autre prolongement basal de C.L.S.₂ ou de C.L.S.₁, soit face à une cellule interstitielle de type épendymaire. Au point d'affrontement du ruban avec la membrane plasmique, on note la présence d'une densification cytoplasmique. Les pédicules basaux des C.L.S.₂ n'entrent pas en contact avec la lamelle basale. Néanmoins, on assiste, surtout au stade 40, à un allongement du pédicule basal attestant l'acquisition de leur polarité vasculaire.

Ainsi, chez l'embryon de Lacerta vivipara, de nombreuses jonctions neurosensorielles apparaissent rudimentaires dès leur mise en place (stade 38). L'indépendance des pédicules basaux vis-à-vis des dendrites des neurones sensoriels signale, malgré la persistance des rubans, la régression synaptique.

5° - La lumière épiphysaire

La lumière épiphysaire contient essentiellement, comme chez d'autres Vertébrés, des cellules isolées (Pl. XII, fig. 1) correspondant selon de nombreux auteurs à des macrophages. Chez certains embryons, elle renferme également des faisceaux d'axones (Pl. XII, fig. 1) dont la présence fut signalée antérieurement (Chapitre II). Ceux-ci, très fréquents à des stades précoces (32, 33, 34), peuvent subsister jusqu'à des stades plus avancés (35 à 40).

Ces fibres de calibre variable sont particulièrement riches en neurotubules. On note de place en place la présence de quelques mitochondries, de ribosomes libres et de saccules du réticulum. L'aspect ultrastructural de ces axones et de ceux du nerf pariétal embryonnaire est comparable.

A partir du stade 34, et jusqu'en fin d'embryogenèse, les fibres nerveuses de la lumière épiphysaire peuvent être affectées par un phénomène de dégénérescence (Pl. XVI, fig. 1). Leur axoplasme devient dense et contient de nombreuses vacuoles lipidiques. Des organites cellulaires y sont très difficilement identifiables ; des mitochondries, en voie de dégénérescence, sont encore parfois reconnaissables.

Si les macrophages et différents débris cellulaires sont fréquemment observés dans la lumière épiphysaire de divers Vertébrés, celle-ci se singularise, chez l'embryon de Lacerta, par la présence de fibres nerveuses, qui semblent dégénérer au fur et à mesure du développement. Leur persistance postnatale éventuelle reste cependant à démontrer.

Selon les données antérieures (Chapitre II), il est hautement probable que ces axones soient issus des neurones sensoriels de l'oeil pariétal. Etant donné les phénomènes de

dégénérescence qui affectent ces structures, au cours de l'ontogenèse, l'intégration de ces prolongements nerveux à l'épiphyse ne semble que temporaire. L'interprétation de ce phénomène dans le contexte phylogénétique a été abordée antérieurement (Chapitre II).

Quoi qu'il en soit, ces procès nerveux ne peuvent, pour les trois raisons qui suivent, correspondre à des terminaisons catécholaminergiques (par ailleurs observées dans la lumière épiphysaire de l'adulte de Lacerta ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969a ; COLLIN, 1969a) :

- a) absence des 3 types de vésicules fondamentales des axones catécholaminergiques (TAXI et DROZ, 1966a)
- b) résultats négatifs pour la mise en évidence des catécholamines (technique de FALCK et HILLARP)
- c) et absence d'incorporation de dopamine et de noradrénaline tritiées.

6° - Les espaces péricapillaires

Les espaces péricapillaires, circonscrivant l'épiphyse, renferment essentiellement, quel que soit le stade considéré, des fibroblastes et leurs prolongements, ainsi que de rares fibres de collagène.

Dès le stade 31, des capillaires colonisent ces espaces à partir de la région proximale épiphysaire. Le réseau capillaire se développe ensuite très rapidement à la périphérie de l'épiphyse mais jusqu'au stade 37, il reste relativement éloigné de la lamelle basale (15 à 25 μ m).

En fin d'embryogenèse (stades 38 à 40), des capillaires sanguins fenestrés s'observent assez fréquemment à proximité de la lamelle basale (Pl. XVIII, fig. 2).

Enfin, 3 jours après la naissance, ceux-ci s'insinuent dans des indentations encore peu profondes de la lamelle basale, augmentant ainsi leur surface de "contact" avec l'épithélium épiphysaire. Les espaces péricapillaires contiennent également, en fin d'embryogenèse et après l'éclosion, des fibres catécholaminergiques dont l'étude fait l'objet du chapitre V.

B - Différenciation cellulaire dans les différentes régions épiphysaires

Les observations, concernant l'évolution ultrastructurale des différents types cellulaires au cours de l'ontogenèse (paragraphe A), ont été réalisées dans l'épiphyse distale (proche de l'oeil pariétal). Nous avons ensuite recherché si, au cours d'un stade embryonnaire donné, les cellules de l'épiphyse moyenne et proximale présentaient le même stade de différenciation. La présence de zones de multiplication cellulaire basale laissait, en effet, entrevoir l'existence d'un gradient de différenciation cellulaire proximo-distal de l'épiphyse. Cette étude embryologique a été réalisée au stade 40.

1° - Dans l'épiphyse distale

Les différentes catégories cellulaires et les rapports qui peuvent exister entre elles sont décrits dans le paragraphe A (voir stade 40). Néanmoins, certaines CLS présentent des ultrastructures comparables à celles rapportées au stade 39, dans l'épiphyse distale.

2° - Dans l'épiphyse moyenne

Les deux types de CLS sont ici nettement moins bien différenciés. Leur segment externe présente un nombre de disques moins important et parfois ne montre plus qu'une massue ciliaire. De plus, si l'on en juge au nombre de grains de sécrétion stockés dans les pédicules basaux, l'activité sécrétoire des CLS₂ diminue progressivement au fur et à mesure que l'on s'éloigne de l'épiphyse distale. Des contacts synaptiques, ou des RCV se rencontrent de façon très sporadique. Les ultrastructures des CLS de l'épiphyse moyenne correspondent en fait à celles décrites aux stades 38 et 37, voire même 36 dans l'épiphyse distale. Il en est de même pour les cellules "interstitielles" et les neurones sensoriels.

3° - Dans l'épiphyse proximale

Les différents types cellulaires apparaissent encore moins bien différenciés que dans l'épiphyse moyenne et leurs ultrastructures sont comparables à celles décrites dans l'épiphyse distale à des stades jeunes de l'embryogenèse (32 à 35).

C - Discussion

1° - Sur le potentiel photorécepteur de l'épiphyse embryonnaire de Lacerta

a) Différenciation des pôles récepteurs

La plupart des disques sont, aux différents stades embryonnaires (38 à 40), du type "ouvert". Cette observation est en plein accord avec les données de nombreux auteurs, relatives aux organes pariétaux des Vertébrés inférieurs, où sont décrits chez l'adulte, des segments externes de type cône.

Au stade 38, il apparaît que la genèse des disques, au niveau du segment externe primordial, est consécutive à la formation d'évaginations de la membrane plasmique : deux ou trois évaginations basales délimitent un ou deux disques ou saccules (MEINIEL, 1974). Les modalités de formation des premiers disques au niveau des dérivés diencephaliques dorsaux des Lacertiliens semblent originales. En effet, nos observations sont différentes de celles effectuées au niveau des yeux latéraux de Rana pipiens (NILSSON, 1964) et de l'organe frontal de Hyla regilla (EAKIN et WESTFALL, 1961), où les disques se forment par invagination de la membrane plasmique. Par contre, les segments externes des CLS de l'épiphyse de Lacerta suivraient une évolution comparable à celle des segments externes des photorécepteurs typiques de l'oeil pariétal de Sceloporus occidentalis (EAKIN, 1973, paru en 1974).

A des stades plus évolués (39 et 40), il est difficile de préciser, sur des images statiques, les modalités de formation

des nouveaux disques. On observe simplement une progression de l'empilement des disques dans le sens proximo-distal. EAKIN (1973) souligne cependant la présence, dans la région distale de l'empilement de disques, d'irrégularités de la membrane plasmique qui pourraient correspondre à l'emplacement de futurs disques : "The distal part of the cilium has not yet formed disks although there are slight indications of new diskal outgrowths".

Des études radioautographiques, après injection d'acides aminés et d'acides gras marqués -telles que celles effectuées par YOUNG (1967, 1971), BIBB et YOUNG (1974), à propos des modalités de renouvellement des disques au niveau des yeux- devraient permettre d'établir les mécanismes de formation proximo-distale des disques.

Si un renouvellement des membranes des disques des cônes, chez l'adulte, n'a pu être montré de façon évidente par cette technique (contrairement aux bâtonnets), la radioautographie pourrait néanmoins contribuer à apporter des résultats intéressants au cours de la différenciation embryonnaire des segments externes de notre matériel.

Chez l'embryon, tous les segments externes sont capables de différencier des disques. Jusqu'au stade 40, nous n'avons aucune preuve d'une diversité des segments externes, par ailleurs reconnue chez l'adulte de Lacerta (COLIN, 1968b, 1969a) et évidente dès le 3ème jour qui suit la naissance. Il faut donc envisager que les segments externes observés, au cours de l'ontogenèse, peuvent immédiatement après la naissance, soit évoluer en segments externes typiques dans le cas des cellules "P" (ils conservent alors l'organisation acquise au cours de l'ontogenèse et différencient après la naissance de nouveaux disques), soit involuer en segments externes rudimentaires dans le cas des PRS (ils subissent alors, après la naissance, une rudimentation marquée par une dégradation des structures mises en place au cours de l'embryogenèse et en particulier celle des disques). L'observation au stade 40 -qui précède la naissance- de segments externes irréguliers, composés de disques plus ou moins vacuolisés, correspond vraisemblablement à l'amorce d'une rudimentation de certains pôles récepteurs.

La présence régulière de corps multivésiculaires au niveau de l'article externe dès le stade 36, constitue également un aspect original mais encore délicat à interpréter. Si l'on tient compte du rôle attribué aux corps multivésiculaires, on serait tenté de penser qu'ils peuvent intervenir, après la naissance, dans la dégénérescence des segments externes (MEINIEL, 1974). Néanmoins, cette interprétation nous paraît à l'heure actuelle difficile à soutenir étant donné que des corps multivésiculaires sont régulièrement rencontrés dans les segments externes typiques, 3 jours après la naissance. Des études cytochimiques ultrastructurales et expérimentales devront ultérieurement préciser les modalités de dégénérescence des segments externes après la naissance.

Ainsi, les cellules de la lignée sensorielle, dans l'épiphyse de Lacerta vivipara, différencient d'une façon générale, au cours de l'ontogenèse, des segments externes typiques. Par cet aspect, l'épiphyse embryonnaire de Lacerta possède des caractéristiques d'organe photorécepteur typique (EAKIN, 1973 au niveau de l'oeil pariétal, NILSSON, 1964 au niveau des yeux latéraux).

b) Différenciation et rudimentation des pôles transmetteurs

Les CLS acquièrent, en fin d'embryogenèse (essentiellement au stade 38), les organites caractéristiques de certaines jonctions neurosensorielles (rubans et vésicules).

Quelques pédicules basaux appartenant aux CLS₁ (futurs photorécepteurs) montrent, chez l'embryon, des rapports synaptiques typiques avec les dendrites des neurones sensoriels. Ces observations sont en accord avec les résultats obtenus chez l'adulte de Lacerta montrant la persistance de rares cellules "P" (COLLIN, 1968b), à pôles récepteurs et transmetteurs (COLLIN et KAPPERS, 1971) bien différenciés.

Cependant, nous constatons une régression d'ordre qualitatif et quantitatif des jonctions neurosensorielles dans les CLS₂ (futurs P.R.S.). Dès le stade 38 de l'embryogenèse, de

nombreux rubans circonscrits par du matériel vésiculaire sont en position inhabituelle comme ceux des pinéalocytes de Mammifères (WOLFE, 1965 ; HOPSU et ARSTILA, 1965 ; ARSTILA, 1967 ; COLLIN, 1969a ; VOLLRATH et HUS, 1973 ; ROMIJN, 1973 ; ROUX, RICHOUX et DUSSART, 1974 ; ZIMMERMAN et TSO, 1975), des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires des Oiseaux (COLLIN, 1968a) et des Reptiles (PETIT, 1969 ; COLLIN, 1969a ; VIVIEN-ROELS, 1970 ; COLLIN et MEINIEL, 1971) , ou des cellules de type sensoriel de l'organe parapinéal (MEINIEL, 1969b, 1971).

Par leur position atypique (face à une cellule interstitielle ou à un autre prolongement basal de C.L.S. ou isolés dans le pédicule basal) de tels organites ne seront vraisemblablement pas impliqués dans les processus inhérents à la transmission synaptique (voir Nota).

L'involution de la zone plexiforme reste néanmoins incomplète puisque les pédicules basaux des C.L.S₂ ne reposent pas encore sur la lamelle basale, comme c'est assez souvent le cas pour les PRS des Reptiles adultes (COLLIN, 1967a,c ; 1969a ; COLLIN et KAPPERS, 1968 ; PETIT, 1969 ; LUTZ et COLLIN, 1967 ; VIVIEN-ROELS, 1969 ; COLLIN et MEINIEL, 1971) et des Oiseaux adultes ou immatures (COLLIN, 1967b, 1968a, 1969 a et c).

La rudimentation qui affecte les pôles transmetteurs de nombreuses C.L.S., au cours de l'ontogenèse, annonce la régression du potentiel photorécepteur de l'épiphyse des Lacertiliens adultes (voir COLLIN, 1969a, 1971).

c) Différenciation de l'innervation sensorielle

Les neurones sensoriels dès le stade 34, présentent un aspect ultrastructural très proche de celui décrit pour les neurones intra-épiphysaires des Vertébrés inférieurs (COLLIN, 1969b, chez les Pétromyzontoïdes ; RÜDEBERG, 1966, 1968, 1969 chez les Poissons ; OKSCHE et VAUPEL-VON HARNACK, 1963, 1965a ;

Nota : il est supposé dans le cas des synapses de type ruban, que les vésicules de 200 à 500 Å contiennent un neurotransmetteur, dont la libération provoque la dépolarisation des neurones sensoriels.

UECK, 1968, chez les Batraciens ; COLLIN, 1969a ; COLLIN et KAPPERS, 1971 ; PETIT, 1969 ; VIVIEN-ROELS, 1969 ; COLLIN et MEINIEL, 1971 chez les Reptiles).

Les corps de Nissl y sont bien représentés et l'appareil de Golgi montre des signes témoignant d'une activité intense. De rares grains denses se rencontrent également dans les cellules nerveuses homologues chez Lampetra (COLLIN et MEINIEL, 1968a et b ; COLLIN, 1969b), Pseudemys (VIVIEN et ROELS, 1968 ; VIVIEN-ROELS, 1969) et Anguis (PETIT, 1969). Certaines structures, telles que les "subsurface cisterns", fréquentes dans les éléments nerveux (ROSENBLUTH, 1962) apparaissent chez l'embryon de Lacerta vivipara de façon sporadique et leur développement reste toujours limité. Ces organites caractérisent également les neurones sensoriels épiphysaires des Pétromyzontoïdes (COLLIN, 1969b) et des Poissons (RÜDEBERG, 1969).

Du glycogène particulière est reconnu dans les péri-karyons et les procès dendritiques. Cependant chez l'embryon de Lacerta les réserves en polyholoside ne sont jamais aussi importantes que chez l'ammocète de Lampetra (COLLIN et MEINIEL, 1968a,b ; COLLIN, 1969b), étudiée en hiver.

La présence d'un cil annexé aux neurones sensoriels n'a pas été signalée dans l'épiphyse. Cependant, que ce soit au cours des phases ontogénétiques (LYSER, 1968, au niveau du tube neural du Poulet) ou à des stades post-natals (DAHL, 1963, au niveau du cortex cérébral ; KARLSSON, 1966, au niveau du noyau géniculé chez le Rat ; MEINIEL et COLLIN, 1971 au niveau du ganglion habénulaire de Lampetra) cette structure accompagne fréquemment les cellules ganglionnaires.

Les ultrastructures décrites au niveau des neurones sensoriels embryonnaires témoignent de leur grande spécialisation dans la conduction future des messages photiques. Nous n'avons aucune preuve, chez l'embryon et le nouveau-né, d'une rudimentation des prolongements axoniques et dendritiques, de telle sorte qu'aucun critère cytologique ne traduit une éventuelle "régression qualitative" (COLLIN, 1969a) des neurones sensoriels.

De plus, étant donné qu'aucun phénomène de dégénérescence n'affecte ces neurones, au cours des stades embryonnaires et même

immédiatement après l'éclosion, nous n'avons ainsi aucune preuve d'une "régression quantitative" (COLLIN, 1969a) de l'innervation sensorielle pinéalofove. Sur la base des observations publiées chez l'adulte de Lacerta -montrant une régression quantitative de l'innervation sensorielle (KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1969a chez Lacerta viridis et muralis)- il faut donc envisager qu'après la naissance, de profondes modifications affectent les neurones sensoriels. Les modalités de régression de ce type d'innervation restent donc à définir. Le nombre des neurones sensoriels étant réduit chez l'adulte, on doit désormais considérer une régression par dégénérescence de l'innervation sensorielle pinéalofove au delà de la naissance.

Ces données montrent que l'épiphyse de Lacerta différencie, au cours de l'ontogenèse, un système bien développé de conduction d'informations photiques vers le système nerveux central.

Ainsi les critères cytologiques d'une rudimentation de l'activité photoréceptrice de l'épiphyse adulte de Lacerta sont faibles au cours de l'embryogenèse ; ils concernent uniquement les jonctions neurosensorielles des C.L.S.₂ (futurs PRS).

Une régression structurale des pôles photorécepteurs et de l'innervation sensorielle pinéalofove -par ailleurs mise en évidence chez l'adulte- n'apparaît pas encore chez l'embryon. De plus, la rudimentation des pôles transmetteurs reste incomplète puisque non accompagnée d'une polarité vasculaire.

Cependant, en rapport avec la régression du potentiel photorécepteur de l'épiphyse, certaines transformations sont perceptibles au niveau des futurs PRS, juste avant la naissance : début de vacuolisation des disques et allongement des pédicules basaux vers les espaces péricapillaires. La rudimentation des pôles récepteur et transmetteur, amorcée en fin d'embryogenèse, intervient vraisemblablement immédiatement après l'éclosion puisqu'elle est effective à trois jours. Elle suppose de profonds et rapides remaniements cellulaires qui feront l'objet d'études ultérieures. La régression de l'innervation sensorielle pinéalofove semble prendre place plus tardivement ; en effet, les

neurones sensoriels conservent, au 3ème jour qui suit la naissance, un aspect cytologique sain.

La persistance de pôles récepteurs et transmetteurs typiques, en fin d'embryogenèse et 3 jours après l'éclosion, laisse néanmoins supposer que l'épiphyse est apte, dès la naissance, à transmettre des messages photiques au système nerveux central (HAMASAKI et DODT, 1969, chez l'adulte).

2° - Critères d'une activité sécrétoire, au cours de l'ontogenèse

Nous avons montré, dans le myoïde, la présence de saccules ergastoplasmiques et de polysomes bien développés en rapport avec une synthèse protéique active. D'autre part, une activité sécrétoire golgienne est établie, à partir du stade 32 de l'embryogenèse, dans certaines CLS.

Le nombre des grains denses dans l'aire golgienne et leur taille augmentent au cours de l'ontogenèse et témoignent, ainsi, en faveur d'une activité golgienne de plus en plus intense. Notre étude quantitative montre d'ailleurs une augmentation hautement significative du nombre des grains denses stockés dans les pédicules basaux, depuis le stade 32 jusqu'au stade 40 de l'embryogenèse.

Cependant, au cours de l'ontogenèse, les pédicules basaux de ces CLS, contrairement à ceux des PRS des Sauropsidés adultes (voir références antérieures), ne semblent pas encore adaptés à la fonction d'excrétion directe des produits de sécrétion puisqu'ils n'ont pas encore acquis une polarité vasculaire.

La signification de ce phénomène sécrétoire reste encore inconnu (voir discussion COLLIN et MEINIEL, 1971). Le fait que la matrice dense des grains ait pu être extraite après action d'enzymes protéolytiques (COLLIN et MEINIEL, 1972 chez l'adulte de Lacerta) laisse supposer que la substance sécrétée est de nature protéique et/ou glycoprotéique. De plus, des études radioautographiques à haute résolution (MEINIEL, COLLIN et CALAS, 1972 ; COLLIN et MEINIEL, 1973a,b chez l'adulte ;

MEINIEL, 1976b et Chapitre IV chez l'embryon) permettent également de penser que les grains denses représentent les sites de stockage des indolamines.

Une seconde catégorie de CLS ne montre pas une telle activité sécrétoire golgienne. Néanmoins, ces cellules peuvent renfermer, dans leurs pédicules basaux, de rares grains denses. Par leur taille (1000 Å de diamètre moyen), leur aspect cyto- logique, et leur rareté dans les pédicules basaux, ces grains denses diffèrent considérablement de ceux du type cellulaire envisagé précédemment. La situation est ici plus proche de celle rencontrée dans les cellules ganglionnaires intra-épi- théliales.

Ainsi, les différences d'activités sécrétoires, observées au cours de l'ontogenèse, permettent d'envisager l'existence de deux types cellulaires appartenant aux CLS.

3° - Pluralité des CLS au cours de l'ontogenèse et origine des PRS

Une pluralité des CLS, chez l'embryon, ne pouvant être définie sur la base des observations réalisées au niveau des segments externes, deux autres critères pouvaient être retenus : d'une part, l'intensité de l'activité sécrétoire golgienne et d'autre part, l'aspect cytologique des pédicules basaux.

La figure 8 illustre les principaux résultats obtenus dans ce chapitre à propos de la différenciation des CLS.

En résumé : jusqu'au stade 35 les types de CLS sont très difficiles à distinguer. En effet, les critères d'une activité sécrétoire golgienne sont encore faibles et les pôles récepteur et transmetteur ne sont pas encore différenciés. Il est vraisemblable qu'une CLS pourvue d'une activité sécrétoire golgienne (dès le stade 32 de l'embryogenèse) soit un futur PRS. Cependant, inversement une CLS ne montrant pas une telle activité, mais présentant la même architecture ne correspond pas forcément à un futur photorécepteur ; il peut s'agir d'un PRS dont l'activité sécrétoire ne se manifeste pas encore. Nous n'avons pu déterminer d'autres critères cytologiques permettant de distinguer les deux types de "cellules sensorielles". C'est pourquoi, avant le stade 35, nous parlerons de cellules souches de la lignée sensorielle. A partir du stade 35, dans l'épiphyse distale, on peut établir avec certitude l'existence de deux types cellulaires.

Identification des CLS₂

Ces cellules possèdent une activité sécrétoire golgienne très intense et concentrent dans leurs pédicules basaux de nombreux grains de sécrétion. Malgré la différenciation de structures sensorielles, telles que des disques (MEINIEL, 1975, 1976a), elles présentent au niveau de leurs pôles transmetteurs, des signes de régression de leur potentiel photorécepteur. Ces critères cytologiques, discutés antérieurement (paragraphe 1), semblent suffisants pour que l'on puisse identifier ces cellules comme étant de futurs PRS.

Identification des CLS₁

Dans ce type cellulaire, l'appareil de Golgi ne montre pas de signe évident d'activité sécrétoire. Leurs pédicules basaux entrent en contact synaptique (à partir du stade 37) avec les dendrites des neurones sensoriels.

Compte tenu de la différenciation typique des pôles récepteur et transmetteur, et de l'absence d'une activité golgienne -du moins comparable à celle des PRS- les CLS₁ représentent les futurs photorécepteurs.

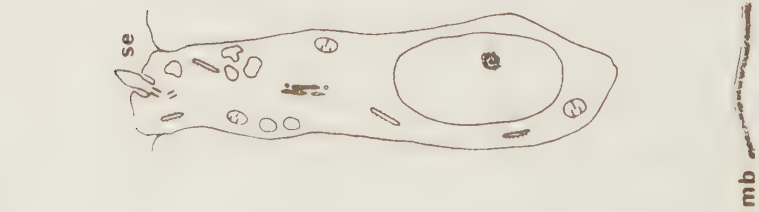
Une pluralité des CLS est donc reconnue à partir du stade 35 de l'embryogenèse.

Notre étude embryologique, chez Lacerta, a permis de saisir certaines étapes de la rudimentation des PRS et nous amène à formuler quelques considérations à propos de l'origine de ce type cellulaire.

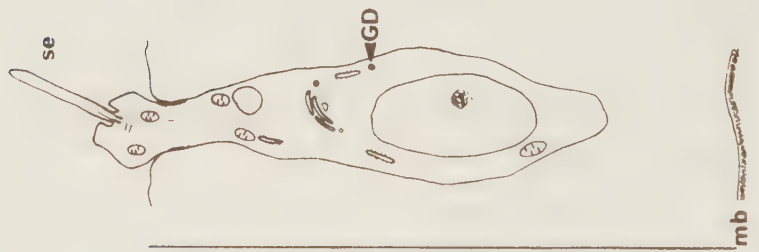
Les segments externes des P.R.S., durant la vie embryonnaire, sont capables de différencier des disques. C'est seulement peu de temps après la naissance qu'ils acquièrent la conformation décrite chez l'adulte.

La rudimentation du pôle photorécepteur des P.R.S., s'effectue par suite d'une régression, par dégénérescence, des disques des segments externes, mis en place au cours de l'embryogenèse (MEINIEL, 1975).

Ces observations sont différentes de celles effectuées chez d'autres Sauropsidés. En effet, chez les Oiseaux, les études ontogénétiques, réalisées jusqu'à ce jour, n'ont pas permis d'observer de différenciation de disques au niveau du cil 9 + 0 (OKSCHE et VAUPEL-VON HARNACK, 1965b ; COLLIN, 1966a,b ; 1969a). Il est probable, étant donné la position phylétique des Oiseaux dans le groupe des Vertébrés, que la



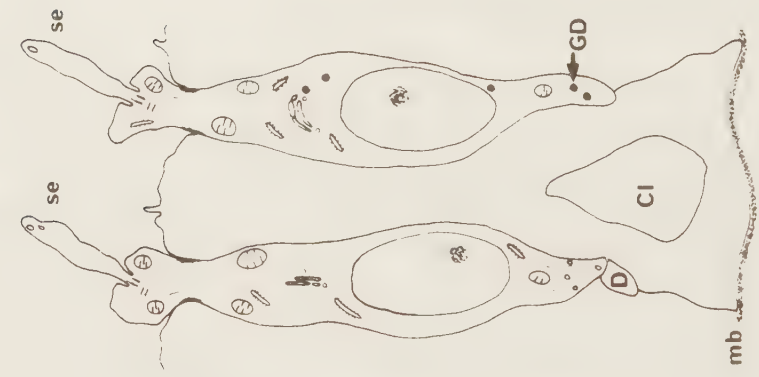
stades 30_31



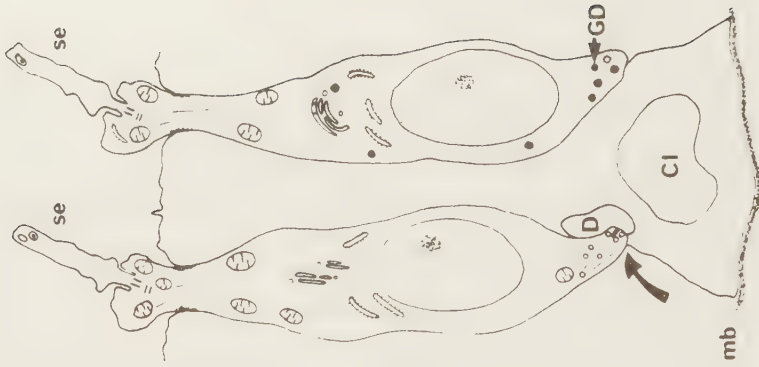
stades 32_33



stade 34



stades 35_36



stade 37

rudimentation de leurs PRS soit plus accentuée que chez les Lacertiliens.

Les pédicules basaux des PRS de Lacerta présentent également au cours de l'ontogenèse, des caractères cytologiques qui témoignent de leur parenté avec les photorécepteurs des Vertébrés inférieurs ; ils renferment des rubans (structures de type sensoriel transitoires puisque absentes chez l'animal mature) et ils se terminent à la hauteur de la zone plexiforme. Cependant, en rapport avec la régression sensorielle graduelle de l'épiphyse, les jonctions neurosensorielles apparaissent dès leur mise en place rudimentaires. On assiste néanmoins, en fin d'embryogenèse et surtout après la naissance, à l'involution de la zone plexiforme : les pédicules basaux des P.R.S. s'allongent puis reposent sur la lamelle basale.

L'ensemble de ces résultats apporte donc des preuves en faveur du concept de "cellules de la lignée sensorielle" -établi par COLLIN (1969a) et approuvé par KAPPERS (1969, 1971) , OKSCHE (1971), CLABOUGH (1973) , RALPH (1975) , ZIMMERMAN et TSO (1975)- et appuie l'hypothèse selon laquelle, au cours de l'évolution des Vertébrés, les PRS dériveraient des photorécepteurs des Anamniotes (COLLIN, 1969a). CLABOUGH (1973) , MØLLER (1974) , ZIMMERMAN et TSO (1975) à la suite de recherches menées chez l'embryon ou le nouveau-né de Mammifères, sont également en faveur de l'origine "photoréceptrice" des pinéalo-cytes des Mammifères. En effet, les auteurs précités, montrent la présence de cil de formule 9 + 0 et soulignent la bipolarité à des stades embryonnaires (CLABOUGH, 1973 ; MØLLER, 1974) et post-embryonnaires (ZIMMERMAN et TSO, 1975) des pinéalo-cytes. D'ailleurs, si l'on confronte la Fig. 6 du travail de CLABOUGH (1973) et les Fig.1 des Planches VIII et XI présentées ici, les premiers stades de différenciation des pinéalo-cytes des Mammifères et des CLS de Lacerta (P et PRS) sont très comparables.

Les données ontogénétiques obtenues chez le Léopard vivipare et le Rat s'accordent harmonieusement avec les données phylogénétiques et justifient la filiation établie entre photorécepteur, PRS et pinéalo-cytes (COLLIN, 1969a, 1971, 1976 ; PEVET et COLLIN, 1976).

4° - Le concept de gradient disto-proximal de différenciation cytologique

Les études ultrastructurales comparatives, effectuées dans les différentes régions épiphysaires, au stade 40 de l'embryogenèse, soulignent l'existence d'un gradient disto-proximal de différenciation cytologique. En effet, au fur et à mesure que l'on se rapproche des régions proximales épiphysaires, les différents types cellulaires sont de moins en moins bien différenciés. Les variations, enregistrées au niveau des structures de type sensoriel et de l'activité sécrétoire des CLS dans l'épiphyse distale moyenne et proximale, correspondent en fait à leur évolution cytologique dans l'épiphyse distale depuis le stade 32 jusqu'au stade 40. Ces données s'accordent harmonieusement avec nos observations embryologiques (Chapitre II) montrant après injection de la thymidine-³H la présence de zones de multiplications cellulaires basales.

En résumé : notre étude cytologique nous permet :

- 1 - de retracer l'évolution des CLS au cours de l'embryogenèse (stades 30 à 40) puis 3 jours après la naissance (Fig. 8). C'est à partir du stade 35, qu'une pluralité des CLS est établie.*
- 2 - de suivre la différenciation de l'innervation sensorielle pinéalofoye.*
- 3 - de considérer les critères d'une régression du potentiel photorécepteur de l'épiphyse embryonnaire. Seules les jonctions neurosensorielles montrent des caractères rudimentaires.*
- 4 - d'établir l'existence d'une activité sécrétoire golgienne dès le stade 32.*
- 5 - d'apporter des preuves ontogénétiques en faveur de l'origine photoréceptrice des PRS.*
- 6 - de définir un gradient disto-proximal de différenciation cytologique.*
- 7 - d'aborder dans des conditions favorables les problèmes de physiologie cellulaire qui suivent.*

CHAPITRE IV

METABOLISME DES INDOLAMINES AU COURS DE L'ONTOGENESE LE GRADIENT EPIPHYSIAIRE DE MATURATION DE CE METABOLISME

"La fonction fondamentale et constante de la pinéale des Vertébrés, photodépendante, est caractérisée par l'élaboration de messages. La rudimentation des photorécepteurs entraîne la disparition du message neurosensoriel, mais on ignore à quel niveau de la lignée des Vertébrés et selon quelles modalités apparaît l'élaboration de messages de type neurohormonal. L'évolution de ces messages et celles de leurs sites récepteurs constituent deux des nombreux problèmes que pose l'organe pinéal, en relation avec la rudimentation de ses photorécepteurs. Il faut s'assurer maintenant si les ou certaines "cellules de la lignée sensorielle" sont les "transducteurs neuro-endocriniens".

COLLIN, 1976

I - ETUDE DES INDOLAMINES ENDOGENES

Depuis la découverte d'un principe actif, la mélatonine, dans la pinéale de Vache (LERNER et al., 1957), les études biochimiques ont permis de retracer les différentes étapes du métabolisme des indolamines (Fig. 9).

A partir du tryptophane, la pinéale de nombreux Vertébrés réalise la biosynthèse du 5-hydroxytryptophane (5-HTP) puis de la sérotonine (5-HT). Cette dernière est ensuite transformée (du moins chez les Mammifères où le phénomène est bien connu : QUAY, 1965a ; ARVY, 1966 ; WURTMAN et al., 1968 ; AXELROD et WURTMAN, 1968 ; WOLSTENHOLME et KNIGHT, 1971) en mélatonine

ou bien -par la voie catabolique faisant intervenir les monoamine oxydases- en acide 5-hydroxyindole acétique (5-HIAA) et en tryptophols.

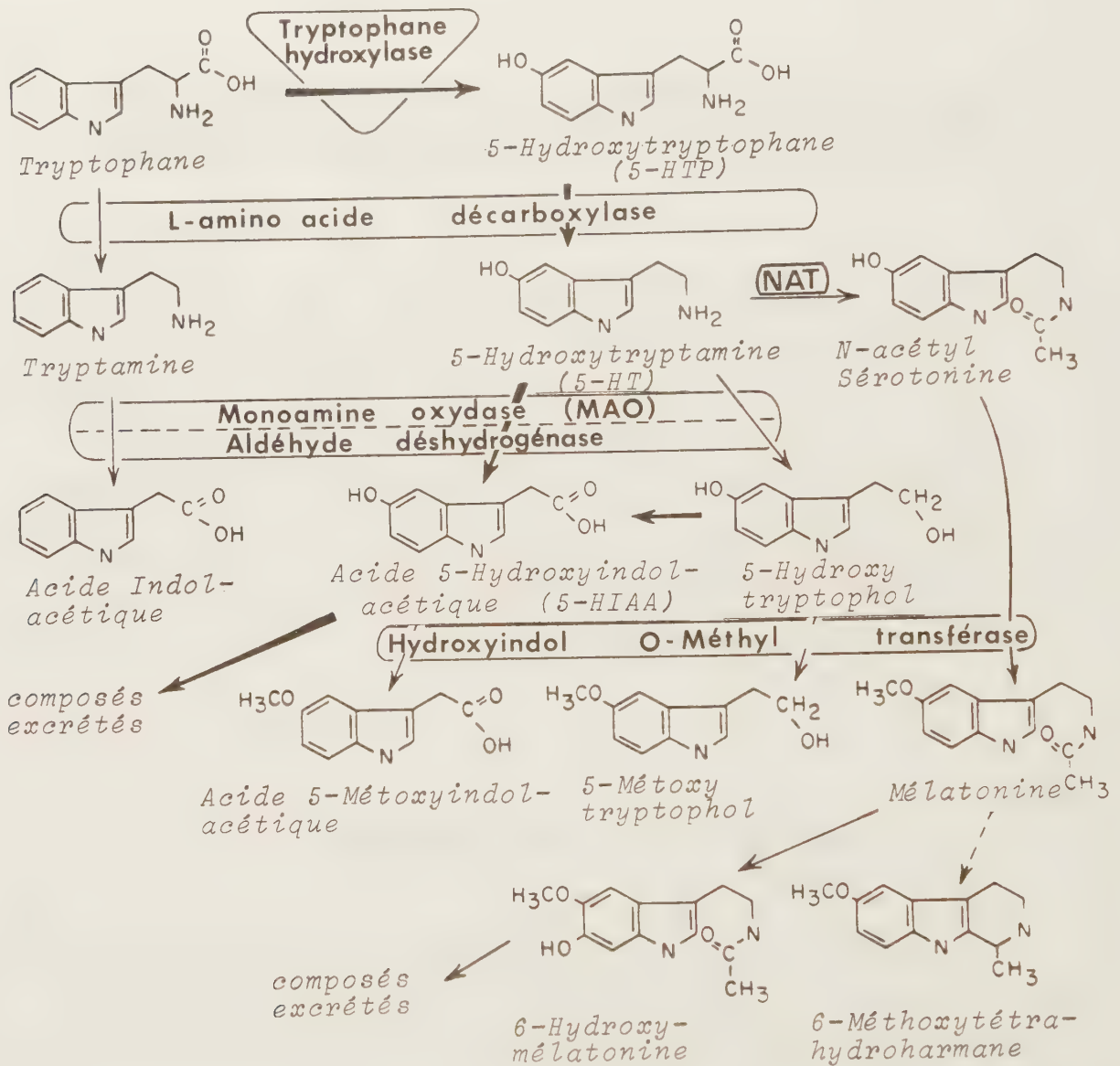


Fig. 9. Métabolisme des Tryptamines chez les Mammifères, d'après QUAY 1969.

Le rythme circadien des biosynthèses indoliques chez les Mammifères (AXELROD et WURTMAN, 1968 ; WURTMAN et al., 1968)

est contrôlé par un système d'innervation orthosympathique provenant des ganglions cervicaux supérieurs (KAPPERS, 1960).

L'aspect photodépendant des biosynthèses indoliques épiphysaires laisse supposer, au cours de l'ontogenèse, des variantes selon les modes de vie des larves et embryons de Vertébrés (ARVY, 1966). A ce problème, est directement lié celui de la mise en place et de l'évolution, au cours du développement, de la biosynthèse de principes actifs.

A vrai dire, et malgré la rareté des recherches dans ce domaine, il n'est pas surprenant que des larves aquatiques aient permis, à certains stades, de considérer la présence d'indolamines et des systèmes enzymatiques impliqués dans la synthèse de ces substances (cf. Rev. in WURTMAN et al., 1968) ; le développement larvaire étant directement soumis aux influences du milieu externe.

Dans la littérature, il n'est pas fait mention de l'existence ou du rôle éventuel des monoamines embryonnaires chez les Amniotes. Le Rat, seul représentant des Mammifères ayant été étudié par les méthodes histophysiologiques et biochimiques, a permis de relater une activité neurohumorale, seulement à partir du 3ème jour après la naissance (QUAY et HALEVY, 1962 ; ZWEIG et al., 1966 ; SNYDER, 1968 ; MACHADO, WRAGG et MACHADO, 1968 ; ILLNEROVA, 1969, 1971 ; HERNANDEZ et ILLNEROVA, 1970 ; AXELROD, 1971).

En conséquence, il était intéressant de reconsidérer l'étude des monoamines embryonnaires, chez les Vertébrés à développement intra-utérin.

L'épiphyse de l'adulte d'autres espèces de Lacertiliens présente un "pool" important d'indolamines et de catécholamines, facilement identifiables par la technique de FALCK et HILLARP (QUAY, JONGKIND et KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1968c ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969b), ce qui permet d'aborder dans des conditions favorables la recherche des monoamines chez l'embryon de Lacerta.

Les résultats que nous présentons permettent de confirmer brièvement et de compléter ceux acquis antérieurement, chez l'adulte d'autres espèces du genre Lacerta, mais surtout d'établir

l'existence d'indolamines, au cours de la vie intra-utérine et postnatale d'un Amniote. Comme nous le verrons, il existe des différences importantes entre l'organe pinéal et "l'oeil pariétal" embryonnaires, malgré la contiguïté de leurs ébauches et des caractères photosensoriels, communs chez l'adulte.

A - Répartition des indolamines dans l'épiphyse

1° - Chez l'adulte

Chez Lacerta vivipara (adulte), comme chez d'autres Lacertidés (L. viridis et muralis : QUAY, JONGKIND et KAPPERS, 1967 ; KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1968c ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969b), une fluorescence jaune, tout d'abord intense, puis labile, caractéristique des indolamines, affecte l'épithélium épiphysaire (Pl. XXIV, fig. 1 et 2). Localisée essentiellement dans la moitié ventrale de l'épithélium, elle se rapporte aux photorécepteurs rudimentaires sécrétoires (COLLIN, 1968c, 1969a) : la région supranucléaire, le cytoplasme du corps cellulaire et surtout le prolongement basal sont très fluorescents. La fluorescence du segment interne est faible ou absente. La localisation cellulaire des indolamines, chez Lacerta vivipara, se rapproche de celle décrite par COLLIN (1968c), chez Lacerta muralis.

Les espaces qui séparent les P.R.S., correspondant aux corps cellulaires des cellules "interstitielles" de type épendymaire, n'apparaissent pas fluorescents.

2° - Chez l'immature (10 à 11 mois)

La fluorescence jaune, caractéristique des indolamines, affecte l'ensemble de l'épithélium épiphysaire (Pl. XXIV, fig. 6). Elle s'étend jusque dans les régions apicales de l'épithélium et semble se localiser aussi bien dans les cellules "interstitielles" que dans les P.R.S.

3° - Chez l'embryon et le nouveau-né

a) Lacerta vivipara

Stade 35 (19 cas) : à la suite de l'exposition aux vapeurs de paraformaldéhyde, aucune fluorescence jaune n'indique la présence d'indolamines (Pl. XXV, fig. 1).

Stade 36 (6 cas) : c'est à ce stade, qu'apparaît, dans la région distale de l'épiphyse, une fluorescence jaune, faible et très labile, indiquant la présence d'indolamines. Localisée à la base de l'épithélium épiphysaire, elle se présente sous la forme d'un fin liseré discontinu (Pl. XXV, fig. 2).

Dans l'épiphyse moyenne et proximale, aucun fluorophore jaune n'est décelable.

Stades 37 et 37-38 : la fluorescence jaune se développe et s'intensifie dans l'épiphyse distale (Pl. XXV, fig. 3 et 4). Elle constitue maintenant, à la base de l'épithélium épiphysaire, un liseré discontinu, beaucoup mieux marqué qu'au stade précédent. On note des condensations de fluorophores sous forme de pyramides irrégulières et de filaments flexueux : ils suggèrent une localisation des indolamines dans les pédicules basaux des cellules de la lignée sensorielle . Au fur et à mesure que l'on se rapproche de la région moyenne de l'épiphyse, la concentration et l'intensité des fluorophores diminuent. Le liseré basal fluorescent s'amenuise, puis disparaît. L'épiphyse proximale ne permet pas d'observer de fluorophores jaunes.

Stade 38 (20 cas) : dans l'épiphyse distale, la fluorescence jaune devient intense et plus résistante à l'exposition au rayonnement U.V.. D'autre part, elle s'étend vers la région moyenne de l'épithélium épiphysaire (Pl. XXV, fig. 5). A ce stade, elle se rapporte à des régions cellulaires précises (essentiellement celles des pédicules basaux, des cytoplasmes périnucléaires et parfois des segments internes) de certaines CLS. Le liseré basal, caractéristique du stade 36, a progressé dans la région moyenne. Par contre, aucun fluorophore jaune n'est encore observé dans la région proximale épiphysaire.

Stades 39 et 39-40 (20 cas) : la localisation de la fluorescence jaune épiphysaire est assez voisine de celle observée au stade 38 (Pl. XXV, fig. 6 ; Pl. XXVI, fig. 1). On note cependant, dans l'épiphyse distale, une augmentation du nombre des CLS caractérisées par un stockage d'indolamines. Dans l'épiphyse moyenne, la fluorescence du liseré basal s'intensifie, alors qu'elle est encore absente dans l'épiphyse proximale.

Stade 40 (38 cas) : c'est au stade 40 que la fluorescence jaune épithéliale est la plus intense et la plus étendue. Elle est visible jusque dans les régions presque apicales de l'épithélium, et se localise nettement dans des CLS (Pl. XXVI, fig. 2). Elle est plus particulièrement intense dans les régions basales de l'épithélium (pédicules basaux et cytoplasme du corps cellulaire) et devient de plus en plus labile dans les régions apicales de l'épithélium (segment interne).

Dans l'épiphyse moyenne, la fluorescence affecte le cytoplasme des corps cellulaires et surtout des pédicules basaux. Dans l'épiphyse proximale, une fluorescence faible et très labile apparaît à proximité de la membrane basale (Pl. XXVI, fig. 3) : les images rappellent celles décrites pour l'épiphyse distale aux stades 36 et 37.

Naissance (1 cas) et 30 heures après la naissance (4 cas) : dans les régions distale et moyenne, l'intensité et le développement de la fluorescence jaune sont plus élevés que chez l'embryon (Pl. XXVI, fig. 5). Dans la région proximale, l'intensité des fluorophores est plus faible que dans les deux zones ci-dessus considérées.

b) Lacerta viridis

Chez cette espèce, notre étude histochimique a été réalisée entre le 30ème et le 60ème jour d'incubation (selon la table chronologique de DHOUILLY et SAXOD, 1974), soit à des stades équivalents aux stades 38, 39 et 40 de la sériation de DUFAURE et HUBERT (1961, chez Lacerta vivipara), ainsi qu'au 2e jour après l'éclosion.

Stade 38 (4 cas) : dans l'épiphyse distale, la fluorescence jaune épithéliale apparaît déjà très intense (Pl. XXVII, fig. 1). Elle se rapporte aux CLS et affecte essentiellement les pédicules basaux et les territoires cytoplasmiques du corps cellulaire. Au niveau du segment interne, la fluorescence jaune est faible et plus particulièrement labile sous le rayonnement ultra-violet.

Comme c'est le cas chez Lacerta vivipara, l'intensité et l'étendue de la fluorescence jaune épithéliale décroissent au fur et à mesure que l'on se rapproche des régions épiphysaires moyenne et proximale.

Stades 39 (3 cas) et 40 (3 cas) : en fin d'embryogenèse, on assiste dans les différentes régions épiphysaires à une augmentation progressive de l'étendue des territoires épithéliaux affectés par une fluorescence jaune (Pl. XXVII, fig. 2).

2 jours après la naissance (1 cas) : la fluorescence jaune s'intensifie nettement. Les CLS sont les seuls constituants épiphysaires concernés par un stockage d'indolamines ; elles apparaissent fluorescentes sur toute leur hauteur.

c) Lacerta muralis

Nos observations se rapportent à des embryons de 23 jours et de 42 jours d'incubation (DHOUILLY et SAXOD, 1974) ainsi qu'à des nouveau-nés de 5 jours. Comme précédemment nous donnons les stades correspondants de la table chronologique de Lacerta vivipara (DUFAURE et HUBERT, 1961).

Stade 37-38 (2 cas) : aucun stockage de dérivés indoliques n'est visualisé au sein de l'épithélium épiphysaire.

Stade 40 (3 cas) : l'épiphyse des embryons ayant atteint le stade 40, montre une fluorescence jaune intense (Pl. XXVII, fig. 3). Celle-ci se présente sous forme d'un liseré basal continu. A partir de cette observation, il apparaît délicat, chez cette espèce, de préciser la localisation cellulaire des indolamines.

5 jours après la naissance (2 cas) : l'intensité des fluorophores jaunes progresse à la base de l'épithélium mais leur distribution reste inchangée.

Autofluorescence

Les épiphyses de Lacerta, non traitées par les vapeurs de paraformaldéhyde, ne permettent pas de révéler les sites de fluorescence précédemment décrits, chez l'adulte, l'immature et le nouveau-né, ainsi qu'aux différents stades embryonnaires envisagés. Chez l'adulte et l'immature, on décèle simplement dans la région apicale de l'épithélium épiphysaire quelques inclusions dont la fluorescence n'est pas spécifique des monoamines.

En résumé : chez Lacerta vivipara, la fluorescence jaune épithéliale apparaît au stade 36 dans la région distale de l'épiphyse. Jusqu'au stade 40, et juste après la naissance, elle augmente progressivement d'intensité. Elle s'étend peu à peu vers les régions moyenne et proximale de l'épiphyse tout en se développant de la base vers les régions moyennes et presque apicales de l'épithélium. Le stockage des indolamines a lieu dans les CLS.

Chez Lacerta viridis, la situation est très proche de celle rencontrée chez Lacerta vivipara. Par contre, chez l'embryon de Lacerta muralis, le stockage des dérivés indoliques est visualisé tardivement. Par ailleurs, une localisation spécifique des fluorophores au niveau des cellules de type sensoriel ne peut être assurée par cette technique.

B - Identification des indolamines épiphysaires

Après application de la technique de FALCK et HILLARP, la nature des fluorophores jaunes, induits par les vapeurs de paraformaldéhyde, peut être identifiée, grâce à la technique microspectrofluorimétrique (BJÖRKLUND et al., 1971).

L'analyse microspectrofluorimétrique des fluorophores jaunes de l'épithélium épiphysaire révèle, chez l'adulte, le nouveau-né et l'embryon au stade 40, des spectres d'émission et d'excitation (Fig. 10) conformes à ceux établis pour la 5-HT (BJÖRKLUND, FALCK et HÅKANSON, 1968). Le spectre d'émission,

chez l'adulte, montre un pic à une longueur d'onde de 535 mμ ou légèrement inférieure, alors que chez les jeunes individus et surtout chez l'embryon, le pic se situe à une longueur d'onde de 515 mμ où légèrement supérieure. Ces variations sont vraisemblablement en rapport avec les importantes différences de concentration en 5-HT (voir discussion). De plus, le spectre d'émission montre un épaulement à environ 600 mμ (voir ultérieurement).

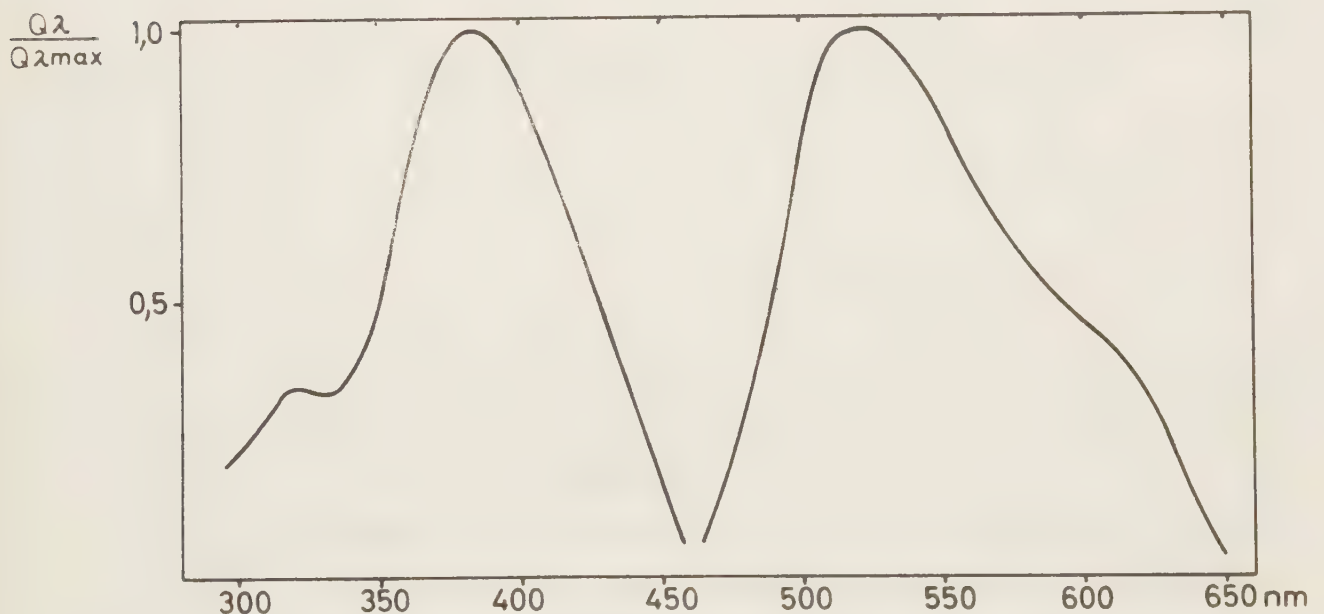


Fig. 10. Etude des fluorophores jaunes de l'épithélium épiphysaire chez l'adulte, chez le nouveau-né (30 heures après la naissance) et chez l'embryon (stade 40).

à droite ; spectre d'émission
à gauche ; spectre d'excitation

Le spectre d'excitation, dans la plupart des cas et essentiellement chez les individus adultes, présente un pic à une longueur d'onde de 385 mμ. Cependant, sur certains enregistrements, nous obtenons également un pic à une longueur d'onde de 410 mμ et parfois un plateau entre 380 et 410 mμ. Le tracé du spectre d'excitation montre également un épaulement à 320 mμ (voir ultérieurement).

C - Variations expérimentales du taux des indolamines épiphysaires

1° - Incorporation de 5-HTP

a) Chez l'adulte

Les 5 individus, auxquels on a administré du 5-hydroxytryptophane, précurseur des dérivés indoliques, montrent, par rapport aux témoins, une augmentation de la fluorescence jaune (Pl. XXIV, fig. 5).

Les indolamines (5-HT et précurseur) semblent localisées dans tout l'épithélium épiphysaire, même dans la région apicale (cellules "interstitielles" et PRS).

b) Chez l'embryon

Les injections du précurseur, pratiquées dans l'allantoïde d'embryons au stade 40, n'entraînent pas de variations significatives du taux des indolamines épiphysaires. Ainsi, sur 5 individus, 2 seulement présentent, en plus de la fluorescence jaune décrite dans les conditions normales au stade correspondant, une fluorescence très faible et très labile dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire.

Par contre, les injections intraventriculaires ou intrapéritonéales de 5-HTP provoquent, chez 11 embryons au même stade (40), une augmentation nette du "pool" indolique (Pl. XXVII, fig. 5). Une fluorescence jaune, très intense et labile, affecte l'épithélium épiphysaire sur toute sa hauteur et jusque dans la région proximale de l'épiphyse. Comme chez l'adulte, elle semble se rapporter aux cellules de la lignée sensorielle et aux cellules "interstitielles" de type épendymaire.

Le 5-HTP provoque donc, chez l'embryon, une augmentation du "pool" indolique épiphysaire : les variations expérimentales obtenues sont dues aux différents types d'administration du précurseur (voir ultérieurement).

Dans le cas d'injection de nialamide + 5-HTP, nous obtenons (4 embryons au stade 40 et 3 embryons au stade 39) une augmentation nette de la fluorescence jaune intra-épithéliale, sans qu'il soit possible d'apprécier si elle est plus intense que dans le cas d'injection unique de 5-HTP.

La fluorescence, induite par les injections de 5-HTP, ou de nialamide + 5-HTP, est peu résistante à l'exposition ultraviolette : après trente secondes environ, il ne subsiste plus que la fluorescence jaune, observée à des stades correspondants dans les conditions normales.

2° - Incorporation de 5-HT chez l'embryon

Quel que soit le mode d'injection de la sérotonine (voir Chapitre I), l'épiphyse de 6 individus, aux stades 39 et 40, présente une fluorescence identique à celle décrite chez les embryons, dans les conditions normales, aux stades correspondants.

Lorsque des injections de nialamide + 5-HT sont pratiquées dans l'allantoïde d'embryons au stade 39, le pool indolique reste identique à celui des épiphyses témoins.

Par contre, si l'amine est injectée dans le 3ème ventricule, à deux embryons au stade 39, une fluorescence intense affecte l'ensemble de l'épithélium. Les images correspondent à celles obtenues après injection de 5-HTP, par voie intrapéritonéale ou intraventriculaire, ou dans certains cas après injections successives de nialamide et de 5-HTP. Fréquemment, lors de l'introduction combinée du nialamide et de 5-HTP ou de 5-HT, on remarque également au niveau du cerveau et du sac dorsal une fluorescence plus ou moins intense en faveur de la rétention probablement non spécifique de 5-HTP ou de 5-HT dans ces structures.

3° - Action du Ro₄-4602 chez l'embryon

Cette drogue, qui inhibe la 5-hydroxytryptophane décarboxylase (= 5-HTPD), ne modifie pas de façon significative, dans nos conditions expérimentales, le pool de 5-HT de l'épiphyse au stade 40.

Après injections successives de la drogue et du 5-HTP, soit par voie intrapéritonéale, soit dans le 3ème ventricule chez 8 individus au stade 40, nous obtenons des images voisines de celles observées après traitement unique par l'inhibiteur des décarboxylases.

4° - Action du nialamide chez l'embryon

Au stade 40, chez les 8 embryons traités par le nialamide, inhibiteur de l'activité monoamine oxydasique (IMAO), on constate, dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire, une faible augmentation de la fluorescence jaune, par rapport aux témoins.

5° - Action de la réserpine

a) Chez l'adulte et l'immature

Quelle que soit la dose injectée et le temps d'action de la drogue (Chapitre I), les épiphyses des individus adultes ou immatures, ne présentent aucune fluorescence jaune, au niveau de l'épithélium de type sensoriel (Pl. XXIV, fig. 3 et 4). Une fluorescence atypique se présente sous forme de petites granulations ou filaments dans la région apicale et parfois moyenne de l'épithélium (Pl. XXIV, fig. 3). Sa localisation correspond parfaitement à celle détectée au niveau des épiphyses témoins (non traitées par les vapeurs de paraformaldéhyde). La réserpine, à des doses élevées, bien supportées par les animaux, provoque donc la déplétion du "pool" indolique de l'épiphyse, chez l'adulte et l'immature.

b) Chez l'embryon

Sur 36 embryons aux stades 37, 38, 39 et 40 du développement, quatre exemplaires (3, au stade 39 et 1 au stade 40) ont succombé, probablement sous l'effet d'une trop forte dose de la drogue.

Chez les 32 individus restants, aucun fluorophore jaune et aucune structure autofluorescente ne sont décelables dans l'épithélium épiphysaire (Pl. XXVII, fig. 4).

La réserpine provoque donc, également chez l'embryon, la déplétion de la 5-HT.

D - Absence d'indolamines dans l'oeil pariétal de l'embryon dans les conditions normales et expérimentales

Que ce soit dans la pellucide, la rétine ou à la périphérie de l'organe, la technique de FALCK et HILLARP, n'a pas permis l'identification de monoamines (indolamines et catécholamines) dans les conditions normales (Pl. XXVI, fig. 4).

L'injection des différentes drogues (réserpine, nialamide, Ro₄-4602), du 5-HTP et de la 5-HT, dans les conditions ci-dessus précisées pour l'organe pinéal, ne modifie nullement l'aspect de l'oeil pariétal.

E - Discussion

L'intérêt principal des résultats, présentés ici, réside dans la démonstration, pour la première fois dans l'organe pinéal embryonnaire d'un Amniote (MEINIEL et COLLIN, 1970 ; MEINIEL, COLLIN et HARTWIG, 1973), d'une biosynthèse indolique qui ne peut être établie dans l'oeil pariétal malgré des analogies de structure et la contiguïté des ébauches de ces deux dérivés diencéphaliques dorsaux (Chapitre II). Les résultats, obtenus chez l'adulte de Lacerta vivipara ont permis de confirmer et de compléter ceux acquis antérieurement chez d'autres espèces du genre Lacerta (QUAY, JONGKIND et KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1967c, 1968c, 1969a ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969b) se rapportant à l'identification et à la localisation cellulaire de la sérotonine épithéliale.

1° - Identification de la sérotonine chez l'adulte
et pendant la vie pré et postnatale

La démonstration du fluorophore jaune (après application de la technique de FALCK et HILLARP) à partir du stade 36, son caractère labile sous le rayonnement U.V., son absence après omission d'une fixation aux vapeurs de formaldéhyde et ses variations dans certaines conditions expérimentales, sont significatifs de la présence d'indolamines, plus particulièrement de la sérotonine (5-HT), et peut-être aussi de son précurseur : le 5-HTP.

L'analyse microspectrofluorimétrique de la 5-HT -effectuée sur des modèles- révèle un maximum d'émission entre 520 mμ et 540 mμ (BJÖRKLUND, FALCK et HÅKANSON, 1968). Dans le cadre de nos études, chez l'embryon, le nouveau-né et l'adulte, les fluorophores jaunes fournissent un spectre d'émission ayant un maximum entre 515 et 535 mμ. Il apparaît, selon BJÖRKLUND que les variations au niveau du pic sont en étroite relation avec le taux de 5-HT. C'est ainsi que les pics obtenus à 535 mμ maximum se rapportent à l'épiphyse de l'adulte où la teneur en sérotonine est connue, chez une autre espèce (WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969b), pour y être très élevée. Par contre, chez l'embryon ou le nouveau-né, en rapport avec une fluorescence plus faible, nous obtenons des pics à un minimum de 515 mμ. Enfin, chez l'embryon, le nombre croissant des fluorophores depuis le stade 36 jusqu'au stade 40 qui précède la naissance, est à interpréter comme représentant une augmentation du taux des indolamines (5-HT et peut-être du 5-HTP). L'épaulement, observé au-delà de 600 mμ, peut dépendre du procédé de mesure et de l'appareil. En effet, il est possible que nous ayons, au début de l'enregistrement (à 650 mμ), une intensité plus forte de la fluorescence (les fluorophores jaunes étant labiles sous l'effet des U.V.). D'autre part, la faible sensibilité de l'appareil, pour des longueurs d'onde supérieures à 600 mμ peut également intervenir : le photomultiplicateur utilisé, équipé d'une photocathode Valvo S 13, a son maximum de sensibilité vers 400 mμ, et à 650 mμ il n'a qu'une sensibilité

de 0,1 %. Ce fait constitue, pour cette région du spectre, une importante source d'erreurs lors de la correction.

Nos résultats concernant les spectres d'excitation pour la 5-HT sont en parfait accord avec ceux de BJÖRKLUND, FALCK et HAKANSON (1968) et de BJÖRKLUND, FALCK et OWMAN (1971). L'épaule à 320 m μ peut dépendre de l'utilisation des lames de quartz qui montrent parfois une excitation maximum en fluorescence U.V. à 320 m μ . Selon BJÖRKLUND, il semble clair que nous avons non seulement l'excitation par la lumière de 320 m μ , mais également une excitation par la lumière émise de 380 m μ . A la suite de nos mesures, il n'est donc pas possible de dire si l'épaule à 320 m μ correspond à une caractéristique du matériel ou s'il provient des lames de quartz.

Les courbes spectrales (émission, excitation), chez Lacerta vivipara, sont significatives du stockage de la 5-HT dans l'épiphyse de l'adulte, du nouveau-né et de l'embryon. Elles correspondent d'ailleurs à celles obtenues par d'autres auteurs dans l'épiphyse de Brochet (OWMAN et RÜDEBERG, 1970), de Grenouille (OWMAN, RÜDEBERG et UECK, 1970) et de Rat (BJÖRKLUND, OWMAN et WEST, 1972). Cependant, les caractéristiques spectrales de la 5-HT (identiques à celles du 5-HTP) ne peuvent être dissociées de celle de son précurseur immédiat. Ce dernier peut donc contribuer à l'établissement des spectres d'émission et d'excitation de la 5-HT, d'autant que dans le cerveau des Lézards, l'activité 5-hydroxytryptophane décarboxylasique pourrait représenter une étape limitante (WILHOFT et QUAY, 1965).

2° - Captage des précurseurs indoliques chez l'embryon

a) Adaptations morphologiques

Si la distinction des prolongements basaux des différents types cellulaires est rendue délicate sur les coupes relativement épaisses, destinées à l'observation en fluorescence U.V. (COLLIN et MEINIEL, 1971), il nous a été possible d'identifier, -en microscopie photonique et électronique, voir Chapitres II et III- une "barrière épendymaire", chez l'embryon de Lacerta

vivipara. Cette "barrière", constituée de façon très générale par la base des cellules "interstitielles" de type épendymaire, sépare morphologiquement les espaces périvasculaires épiphysaires des pédicules des cellules de type photorécepteur. Cette observation permet donc de considérer, après identification des sites de stockage de la 5-HT dans les CLS, que les cellules "interstitielles" de type épendymaire sont impliquées dans le captage de certains précurseurs comme le tryptophane, point de départ de la synthèse des indolamines, et peut-être d'autres acides aminés entrant dans la composition de différentes molécules protéiques (voir Discussion du paragraphe II). Cette disposition morphologique et les conclusions qu'elle permet de tirer sont en parfait accord avec l'interprétation fournie antérieurement (COLLIN, 1969a), concernant le rôle des cellules "interstitielles" de type épendymaire, appelées trop souvent à tort, cellules de soutien ("supportive cells").

b) Incorporation du 5-HTP

L'intégration du 5-HTP fournit des résultats différents selon le mode d'injection. Les modalités de rétention du précurseur (ou de son dérivé la 5-HT) sont très voisines par voie intrapéritonéale, chez l'adulte, et par voie intraventriculaire et intrapéritonéale, chez l'embryon. Ces résultats montrent l'affinité de l'épiphyse pour les précurseurs de la mélatonine.

La présence des fluorophores jaunes dans les cellules "interstitielles", n'est pas à interpréter comme une intervention de ces constituants épiphysaires dans la synthèse indolique, mais elle représente plutôt une capture et un stockage de 5-HTP dans le cas d'une surcharge en précurseur ; le taux de 5-HTP, utilisé ici, (30 à 40 mg/kg) étant très élevé. Pour les incorporations de 5-HTP-³H (COLLIN et MEINIEL, 1973a,b) à des doses de 6 mg/kg environ, les réactions spécifiques sont exclusivement observées dans les PRS. Il en est de même chez l'embryon aux stades 36 à 40 (voir ultérieurement).

D'autre part, il est possible que le taux des indolamines, au niveau des PRS, atteigne une concentration telle qu'il n'est alors plus possible, sur des coupes de 10µm, de dissocier les différents types cellulaires (COLLIN et MEINIEL, 1971).

c) Incorporation de la 5-HT

Quelles que soient les conditions d'injection, la sérotonine n'est pas incorporée. L'épiphyse embryonnaire ne réalise donc pas "l'uptake" de la sérotonine exogène (voir aussi COLLIN et MEINIEL, 1973b, chez l'adulte). Si les embryons subissent au préalable un traitement par un inhibiteur des monoamine oxydases, nous obtenons des résultats variables selon le protocole d'injection de la 5-HT. Lorsqu'elle est introduite par voie allantoïdienne, aucune variation du "pool" indolique n'est enregistrée. Par contre, lors d'injections intrapéritonéales ou intraventriculaires, la 5-HT semble s'incorporer massivement dans l'ensemble de l'épithélium. En fait, comme chez l'adulte (COLLIN et MEINIEL, 1973b avec de la 5-HT-³H), elle se fixe vraisemblablement au niveau des cellules "interstitielles" de type épendymaire et la fluorescence observée représente à la fois la 5-HT endogène des CLS et la 5-HT exogène, incorporée au niveau des cellules "interstitielles". L'intégration de 5-HT, dans ces mêmes cellules, ne peut-être retenue comme significative.

Pour le 5-HTP et la 5-HT, le protocole d'injection par voie allantoïdienne semble devoir être exclu dans l'étude expérimentale de la biosynthèse indolique.

3° - Considérations sur les enzymes impliquées dans la synthèse et la dégradation de la 5-HT chez l'embryon

a) Injection de Ro₄-4602 et activité 5-HTPD

Les faibles variations du taux des indolamines, après injection de Ro₄-4602, sont vraisemblablement à rapporter à un "turn-over" relativement lent de la 5-HT, dans l'épiphyse embryonnaire de Lacerta. Le fait que l'injection de 5-HTP, après action de Ro₄-4602, n'entraîne pas une augmentation du "pool" indolique -au moins aussi importante que lors d'injections uniques de 5-HTP- tend bien à prouver que la décarboxylation du 5-HTP est inhibée, et plaide en faveur d'une activité 5-HTPD épiphysaire pendant la vie embryonnaire.

b) Injection de nialamide et activité MAO

Le nialamide ne provoque pas une augmentation importante du "pool" indolique ce qui aurait pu suggérer, chez l'embryon (stade 40) que l'activité monoamine oxydasique (MAO) est relativement peu intense par rapport à celle de l'adulte (COLLIN et MEINIEL, 1973b). Toutefois nos données radioautographiques et histoenzymologiques ne valident pas cette suggestion (paragraphe II de ce chapitre).

En résumé : la technique de FALCK et HILLARP, hautement spécifique et sensible, a permis de visualiser un "pool" indolique dans l'épiphyse embryonnaire (dès le stade 36 chez Lacerta vivipara).

Grâce à l'étude microspectrofluorimétrique, nous précisons que nous avons affaire à de la sérotonine ou 5-HT. De ce fait, l'épiphyse possède très probablement, dès ce stade, les systèmes enzymatiques tryptophane hydroxylase et 5-hydroxytryptophane décarboxylase lui permettant de réaliser la biosynthèse de la 5-HT.

La 5-HT apparaît successivement de la région distale vers la région proximale épiphysaire, suggérant ainsi que les biosynthèses indoliques se mettent en place selon un gradient disto-proximal.

Par ailleurs si l'on en juge à l'augmentation de l'intensité et de l'étendue de la fluorescence épithéliale, le taux de 5-HT croît progressivement au cours de l'ontogenèse.

Les biosynthèses indoliques envisagées précédemment n'ont jamais pu être mises en évidence dans l'oeil pariétal embryonnaire aussi bien dans les conditions naturelles qu'expérimentales.

Dans l'épiphyse, la 5-HT (et vraisemblablement une certaine quantité de 5-HTP) est stockée au niveau des C.L.S..

Ceci apparaît clairement sur nos préparations de fluorescence à partir du stade 38. Avant ce stade, il est difficile de se prononcer par cette technique. Par ailleurs nous ne pouvons préciser le (ou les ?) type (s) de C.L.S. engagé (s) dans le métabolisme indolique, ceci nous a conduit à envisager l'étude expérimentale suivante.

II - SITES DU METABOLISME INDOLIQUE

La mise en évidence, par les techniques de FALCK et HILLARP et de microspectrofluorimétrie, d'une synthèse indolique dans les cellules de la lignée sensorielle de l'épiphyse embryonnaire de Lacerta vivipara nous a incitée à préciser ces données préliminaires en utilisant des méthodes radioautographiques et histo-enzymologiques et en appliquant des tests pharmacologiques. En choisissant le 5-hydroxytryptophane-³H comme précurseur, il est possible d'étudier les sites d'incorporation et d'utilisation

de cet amino-acide (MEINIEL, COLLIN et CALAS, 1972 ; COLLIN et MEINIEL, 1973a,b, chez l'adulte), en fonction de la différenciation cytologique précédemment démontrée pour l'épiphyse embryonnaire.

Le complexe pariétal embryonnaire du genre Lacerta présente, pour l'étude de ce problème, certains avantages : la présence d'un "pool" indolique endogène est originale (voir antérieurement) et l'identification des différents types cellulaires y est relativement aisée. Cependant l'obtention d'un important matériel, s'étalant sur une quinzaine de jours par an, constitue un facteur limitatif que nous sommes néanmoins parvenue à surmonter. Après deux années de mise au point (1971, 1972) nous pouvions aborder dans des conditions favorables cette étude expérimentale.

A - Etude critique des méthodes

Avant d'entreprendre toute étude relative au métabolisme indolique, il était nécessaire d'adapter les techniques d'injection du précurseur indolique exogène et des drogues à l'embryon de Sauropsidé.

Plusieurs types de combinaisons ont donc fait l'objet d'essais. Leur comparaison permet de retenir les méthodes les plus satisfaisantes, dont les résultats s'accordent avec ceux obtenus par la technique hautement spécifique et sensible de FALCK et HILLARP.

Les réactions radioautographiques peuvent ici, d'une façon générale, se grouper en deux catégories :

- les unes spécifiques, représentées par des accumulations de grains d'argent qui se rapportent à des types et régions cellulaires bien particuliers comme le montrent les paragraphes suivants , à l'issue de la coloration des préparations histologiques.

- les autres diffuses, correspondant à une répartition éparsée des grains d'argent, non significatives d'un "uptake" et d'une utilisation spécifiques du précurseur.

TABLEAU III

INJECTIONS DE 5-HTP-³H DANS L'ALLANTOÏDE

Stades	Doses	Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques au niveau de l'épiphyse
38	50 μ Ci	7-7-1971 à 16h05	7-7-1971 à 21h45	5h40 min	0
38	50 μ Ci	7-7-1971 à 15h30	8-7-1971 à 0h10	8h40 min	0
38	50 μ Ci	7-7-1971 à 15h40	8-7-1971 à 1h40	10h	0
38	50 μ Ci	7-7-1971 à 16h15	8-7-1971 à 4h15	12h	0
39	30 μ Ci	7-7-1971 à 16h17	8-7-1971 à 6h17	14h	0
37	40 μ Ci	7-7-1971 à 15h55	8-7-1971 à 7h55	16h	0
38	50 μ Ci	7-7-1971 à 16h00	8-7-1971 à 10h00	18h	0
38	30 μ Ci	7-7-1971 à 16h25	8-7-1971 à 14h25	22h	0
38	50 μ Ci	7-7-1971 à 15h45	8-7-1971 à 15h45	1j	0
39	50 μ Ci	7-7-1971 à 16h10	9-7-1971 à 4h30	1j½	0

1° - Méthodes éprouvées pour l'injection du précurseur au cours de l'ontogenèse

Les résultats obtenus au niveau de l'épiphyse sont consignés dans les Tableaux III, IV et V.

a) Injections de 5-HTP-³H dans l'allantoïde
(stades 37, 38 et 39)

Quelle que soit la durée de l'expérience (entre 5h40 et 1 jour 1/2), le traceur, injecté dans l'allantoïde, ne s'incorpore pas au niveau de l'épithélium épiphysaire (Tableau III). Dans les régions télencéphaliques, diencéphaliques et mésencéphaliques, contiguës à l'épiphyse, de même que dans le conjonctif périphérique, les grains d'argent sont absents ou très rares et ne présentent aucune localisation spécifique.

L'oeil pariétal embryonnaire des mêmes individus (étudié dans les mêmes conditions) ne réalise pas "l'uptake" du précurseur.

b) Injections de 5-HTP-³H dans le 3ème ventricule
(stades 36, 37, 39 et 40)

Le 5-HTP-³H, injecté dans la région du 3ème ventricule, permet d'observer, après une 1/2 heure jusqu'à 8h08, des réactions radioautographiques spécifiques (Tableau IV), localisées essentiellement à la base de l'épithélium épiphysaire.

L'intensité de ces réactions varie selon le stade considéré. Elle est plus importante aux stades âgés de l'embryogenèse (39 et 40) qu'aux stades plus jeunes (36 et 37) (Tableau IV et Planche XXXIII, fig. 1 et 2). Cependant, dans une série expérimentale donnée, constituée d'individus au même stade de développement, l'intensité du marquage est variable (essentiellement chez les embryons aux stades 39 et 40 du développement).

D'autre part, la comparaison des résultats obtenus chez les embryons au stade 39 avec ceux enregistrés au stade 40 (Tableau IV), fait apparaître, malgré des conditions expérimentales identiques, que les réactions radioautographiques

INJECTIONS DE 5-HTP-³H DANS LE 3ème VENTRICULE

Stades	Doses	Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques spécifiques	Réactions radioautographiques diffuses
36	4 μ Ci	14-7-1972 à 15h15	14-7-1972 à 16h15	1h	+	faibles
36	4 μ Ci	14-7-1972 à 15h20	14-7-1972 à 17h25	2h05 min	+	très faibles
36	4 μ Ci	14-7-1972 à 15h20	14-7-1972 à 18h35	3h15 min	+	très faibles
36	4 μ Ci	14-7-1972 à 15h30	14-7-1972 à 19h30	4h	+	très faibles
36	4 μ Ci	14-7-1972 à 15h30	14-7-1972 à 20h30	5h	+	très faibles
36	4 μ Ci	14-7-1972 à 15h30	14-7-1972 à 21h30	6h	+	très faibles
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 15h30	14-7-1972 à 16h00	30 min	+	intenses
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 15h35	14-7-1972 à 16h40	1h05 min	+	intenses
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 13h15	14-7-1972 à 15h25	2h10 min	+	très faibles
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 13h07	14-7-1972 à 16h07	3h	+	intenses
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 13h12	14-7-1972 à 17h12	4h	+	très faibles
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 13h03	14-7-1972 à 18h10	5h07 min	+	très intenses
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 13h00	14-7-1972 à 19h05	6h05 min	+	très intenses
37	3 μ Ci	14-7-1972 à 13h07	14-7-1972 à 19h10	6h03 min	+	très faibles
39	3 μ Ci	22-7-1972 à 9h03	22-7-1972 à 10h06	1h03 min	+	faibles
39	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h53	22-7-1972 à 10h51	1h58 min	++	intenses
39	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h38	22-7-1972 à 11h41	3h03 min	+	faibles
39	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h22	22-7-1972 à 12h28	4h06 min	+	faibles
39	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h11	22-7-1972 à 13h13	5h02 min	+	faibles
39	3 μ Ci	22-7-1972 à 7h58	22-7-1972 à 15h01	7h03 min	+	intenses
39	3 μ Ci	22-7-1972 à 7h52	22-7-1972 à 16h00	8h08 min	+	très faibles
40	3 μ Ci	22-7-1972 à 9h00	22-7-1972 à 10h02	1h02 min	±	très intenses
40	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h48	22-7-1972 à 10h45	1h57 min	±	très intenses
40	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h40	22-7-1972 à 11h45	3h05 min	+	intenses
40	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h23	22-7-1972 à 12h30	4h07 min	+	faibles
40	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h15	22-7-1972 à 13h15	5h	+	faibles
40	3 μ Ci	22-7-1972 à 8h00	22-7-1972 à 15h03	7h03 min	±	intenses
40	3 μ Ci	22-7-1972 à 7h50	22-7-1972 à 15h57	8h07 min	+	intenses

spécifiques sont plus intenses au stade 39 qu'au stade 40 (résultats non conformes aux données de la fluorescence). Outre ces réactions, décelables à la base de l'épithélium, on note, dans l'ensemble de l'épiphyse, la présence de grains d'argent à répartition diffuse (Pl. XXXIII, fig. 1 et 2) et en quantité plus ou moins importante selon les individus. Un tel marquage, dans une même série expérimentale, peut être très faible, intense, et même très intense (Tableau IV).

Dans les structures mésencéphaliques et télencéphaliques dorsales, dans la paraphyse et dans le tissu conjonctif périphérique, s'observe également une répartition diffuse des grains (Pl. XXXIII, fig. 1 et 2) dont la densité -variable selon les individus- semble assez voisine de celle détectée dans l'épiphyse. Le sac dorsal incorpore très fortement le traceur (Pl. XXXIII, fig. 1 et 2), beaucoup plus que la pinéale. Les réactions y sont cependant diffuses.

Dans les mêmes conditions, le 5-HTP-³H ne s'intègre pas dans l'oeil pariétal des mêmes animaux. Les grains d'argent, aussi bien dans la pellucide que dans la rétine, sont relativement peu nombreux et dispersés.

c) Injections intrapéritonéales de 5-HTP-³H
(stades 36 et 39)

Les injections intrapéritonéales de 5-HTP-³H sont à l'origine de réactions radioautographiques spécifiques, localisées essentiellement, comme lors des injections intraventriculaires, à la base de l'épithélium épiphysaire.

Malgré de faibles variations individuelles, l'homogénéité des résultats, dans une même série expérimentale (considérée à un stade donné, stades 36 ou 39), semble pouvoir être atteinte après mise en oeuvre de cette technique (Tableau V).

Dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire, le marquage diffus est très faible (Tableau V).

Dans le télencéphale dorsal, le tectum mésencéphalique et la paraphyse, de même que dans la capsule conjonctive périphérique à l'épiphyse, les grains d'argent sont relativement

TABLEAU V

INJECTIONS INTRAPERITONEALES DE 5-HTP-³H

Stades	Doses	Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques spécifiques	Réactions radioautographiques diffuses
36	4 μ Ci	12-7-1972 à 15h00	12-7-1972 à 15h30	30 min	0 à $\pm$	très faibles
36	4 μ Ci	12-7-1972 à 15h01	12-7-1972 à 16h01	1h	0 à $\pm$	très faibles
36-37	4 μ Ci	12-7-1972 à 15h02	12-7-1972 à 15h03	3h	$\pm$	très faibles
36	4 μ Ci	12-7-1972 à 15h04	12-7-1972 à 19h04	4h	$\pm$	très faibles
36	4 μ Ci	12-7-1972 à 15h05	12-7-1972 à 20h05	5h	+	très faibles
36-37	4 μ Ci	12-7-1972 à 15h06	12-7-1972 à 21h06	6h	+	très faibles
36	4 μ Ci	12-7-1972 à 15h07	12-7-1972 à 21h07	6h	+	très faibles
39	5 μ Ci	18-7-1972 à 10h40	18-7-1972 à 11h40	1h	++	très faibles
39	5 μ Ci	18-7-1972 à 8h56	18-7-1972 à 11h23	2h27 min	++	très faibles
39	5 μ Ci	18-7-1972 à 10h25	18-7-1972 à 14h04	3h39 min	++	très faibles
39	5 μ Ci	18-7-1972 à 9h49	18-7-1972 à 14h34	4h45 min	+	très faibles
39	5 μ Ci	18-7-1972 à 9h32	18-7-1972 à 15h06	5h34 min	+++	très faibles
39	5 μ Ci	18-7-1972 à 9h23	18-7-1972 à 16h04	6h41 min	++	très faibles

rares, sans localisation spécifique. Par contre, le sac dorsal incorpore le précurseur radioactif toujours plus fortement que l'organe pinéal, mais la répartition de la radioactivité y est diffuse.

L'oeil pariétal embryonnaire, dans les mêmes conditions, ne montre que de très rares grains d'argent épars et sans localisation spécifique.

En résumé : aucun captage de 5-HTP-³H n'est observé après son administration intra-allantoïdienne : ceci indique que le précurseur est probablement métabolisé avant qu'il ne puisse être utilisé par l'organe pinéal. Comme l'indiquent des expériences ultérieures, des injections pratiquées de 0 à 5h40 auraient également donné des résultats négatifs.

Malgré les doses minimales administrées (1 à 3 µl), une perte de précurseur, à l'issue de l'injection dans la région du 3ème ventricule, est inévitable et permet d'expliquer les fluctuations relatives aux intensités des réactions, obtenues chez les individus d'une même série expérimentale. De plus, par cette méthode, nous introduisons, dans les régions encéphaliques voisines de l'épiphyse, un excès de molécules de précurseur qui ne subit pas "l'uptake" sélectif et qui se trouve, en conséquence, responsable des réactions diffuses d'intensité variable, sans signification fonctionnelle. L'évolution quantitative du marquage, au cours de l'ontogenèse, n'est pas conforme à celle de la fluorescence spécifique des indolamines (5-HTP et 5-HT : MEINIEL et COLLIN, 1970 ; MEINIEL, COLLIN et HARTWIG, 1973 et paragraphe I de ce chapitre). Cette technique d'injection du précurseur ne permet pas d'obtenir des résultats homogènes au sein d'une même série expérimentale (individus d'un même stade) ou comparables (aux différents stades). Ainsi, malgré des observations qualitatives assez voisines de celles obtenues par la technique d'injection intrapéritonéale, l'administration intraventriculaire de 5-HTP-³H ne traduit pas correctement des variations quantitatives.

Les modalités d'incorporation du 5-HTP-³H sont très voisines par voie intrapéritonéale chez l'adulte (MEINIEL, COLLIN et CALAS, 1972 ; COLLIN et MEINIEL, 1973a,b) et chez l'embryon. Ce type d'administration procure l'avantage de pouvoir introduire des volumes faibles et précis de précurseur, sans perte de ce dernier au cours de l'injection (d'où la possibilité de fournir des doses physiologiques proportionnelles au poids des individus, selon le stade considéré) et permet d'aborder dans des conditions favorables des études qualitatives et quantitatives comparatives. Au sein d'une même série d'individus, appartenant à un stade donné, les résultats sont relativement homogènes et les sites d'intégration spécifique du précurseur sont plus facilement comparables. Ceci est rendu possible grâce à l'absence ou à la faible intensité des réactions diffuses au niveau de l'épithélium épiphysaire et des structures périphériques.

TABEAU VI

INJECTIONS DE RO₄4602 ET DE 5-HTP-³H DANS L'ALLANTOÏDE

Stades	RO ₄ 4602 (10 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (30 μ Ci) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques
40	22-7-1972 à 5h19	22-7-1972 à 8h30	22-7-1972 à 11h35	3h05	0
40	22-7-1972 à 5h20	22-7-1972 à 8h20	22-7-1972 à 12h30	4h10	0
40	22-7-1972 à 5h21	22-7-1972 à 8h05	22-7-1972 à 13h10	5h05	très faible à 0
40	22-7-1972 à 5h22	22-7-1972 à 7h55	22-7-1972 à 15h00	7h05	0
40	22-7-1972 à 5h23	22-7-1972 à 7h40	22-7-1972 à 15h50	8h10	0

2° - Méthodes éprouvées pour l'injection combinée des drogues et du précurseur au cours de l'ontogenèse

- a) Avec le Ro_4 -4602 (inhibiteur de la 5-hydroxy-tryptophane décarboxylase)

Les résultats obtenus au niveau de l'épiphyse sont consignés dans les Tableaux VI, VII et VIII.

α - Injections de Ro_4 -4602 et de 5-HTP- ^3H dans l'allantoïde (stade 40)

Quelle que soit la durée de l'expérience (de 3h05 à 8h10), le traceur ne s'incorpore pas au niveau de l'épiphyse (Tableau VI). Dans les structures télencéphaliques, diencéphaliques et mésencéphaliques voisines, de même que dans le conjonctif péri-épiphytaire, les grains d'argent sont absents ou bien extrêmement rares.

β - Injections de Ro_4 -4602 dans l'allantoïde et injections intrapéritonéales de 5-HTP- ^3H (stade 39)

Dans de telles conditions, un marquage faible apparaît dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire (Tableau VII) et ceci quel que soit le temps d'incorporation du traceur (1h à 6h35). Ces réactions radioautographiques diffuses sont légèrement plus intenses que celles observées dans les structures mésencéphaliques et télencéphaliques contiguës à l'épiphyse, ou dans la parapyse. Comme c'est le cas lors d'injections uniques de 5-HTP- ^3H dans le 3ème ventricule ou dans la cavité abdominale (voir paragraphe 1), le sac dorsal incorpore toujours très fortement le précurseur mais les réactions radioautographiques, à ce niveau, ne montrent pas de localisation préférentielle.

γ - Injections intrapéritonéales de Ro_4 -4602 et injections de 5-HTP- ^3H dans le 3ème ventricule (stade 39)

Un marquage faible et diffus, légèrement plus intense cependant que dans la série précédente, affecte l'épiphyse (entre 2h et 8h : Tableau VIII), le mésencéphale et le télencéphale.

TABLEAU VII

INJECTIONS DE RO₄4602 DANS L'ALLANTOÏDE ET INJECTIONS INTRAPERITONEALES DE 5-HTP-³H

Stades	RO ₄ 4602 (10 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (5 μ Ci) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques
39	18-7-1972 à 6h02	18-7-1972 à 10h40	18-7-1972 à 11h40	1h00	+
39	18-7-1972 à 6h03	18-7-1972 à 9h00	18-7-1972 à 11h30	2h30	+
39	18-7-1972 à 6h04	18-7-1972 à 10h20	18-7-1972 à 14h10	3h50	+
39	18-7-1972 à 6h05	18-7-1972 à 9h55	18-7-1972 à 14h30	4h35	+
39	18-7-1972 à 6h06	18-7-1972 à 9h35	18-7-1972 à 15h10	5h35	+
39	18-7-1972 à 6h07	18-7-1972 à 9h20	18-7-1972 à 15h55	6h35	+

TABEAU VIII

INJECTIONS INTRAPERITONEALES DE RO₄4602 ET INJECTIONS DE 5-HTP-³H DANS LE 3^{ème} VENTRICULE

Stades	RO ₄ 4602 (3,5 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (3 μ Ci) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques
39	20-7-1972 à 5h42	20-7-1972 à 9h15	20-7-1972 à 11h15	2h	0
39	20-7-1972 à 5h47	20-7-1972 à 9h00	20-7-1972 à 11h55	2h55	+
39	20-7-1972 à 5h49	20-7-1972 à 8h40	20-7-1972 à 12h40	4h00	+
39	20-7-1972 à 5h52	20-7-1972 à 8h30	20-7-1972 à 13h40	5h10	+
39	20-7-1972 à 5h53	20-7-1972 à 8h15	20-7-1972 à 14h15	6h00	+
39	20-7-1972 à 5h57	20-7-1972 à 8h04	20-7-1972 à 16h04	8h00	+

TABLEAU IX

INJECTIONS DE NIALAMIDE ET DE 5-HTP-³H DANS L'ALLANTOÏDE

Stades	Nialamide (15 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (30 μ Cl) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques
39	19-7-1972 à 17h19	20-7-1972 à 9h25	20-7-1972 à 10h35	1h10	0
39	19-7-1972 à 17h20	20-7-1972 à 9h10	20-7-1972 à 11h10	2h00	0
39	19-7-1972 à 17h21	20-7-1972 à 8h50	20-7-1972 à 11h50	3h00	0
39	19-7-1972 à 17h22	20-7-1972 à 8h45	20-7-1972 à 12h50	4h05	0
39	19-7-1972 à 17h23	20-7-1972 à 8h25	20-7-1972 à 13h35	5h10	+
39	19-7-1972 à 17h24	20-7-1972 à 8h10	20-7-1972 à 14h15	6h05	+
39	19-7-1972 à 17h25	20-7-1972 à 9h20	20-7-1972 à 16h20	7h00	++
39	19-7-1972 à 17h26	20-7-1972 à 7h50	20-7-1972 à 16h00	8h10	+
40	21-7-1972 à 17h11	22-7-1972 à 8h55	22-7-1972 à 10h00	1h05	0
40	21-7-1972 à 17h12	22-7-1972 à 8h40	22-7-1972 à 10h45	2h05	0
40	21-7-1972 à 17h13	22-7-1972 à 8h30	22-7-1972 à 11h35	3h05	0
40	21-7-1972 à 17h14	22-7-1972 à 8h20	22-7-1972 à 12h25	4h05	±
40	21-7-1972 à 17h15	22-7-1972 à 8h10	22-7-1972 à 13h15	5h05	++
40	21-7-1972 à 17h15	22-7-1972 à 7h40	22-7-1972 à 15h50	8h10	++

En résumé : le Ro₄-4602, injecté dans l'allantoïde ou dans la cavité abdominale, semble inhiber avec la même efficacité la décarboxylation du 5-HTP, tout au moins à un stade donné de l'embryogenèse (en l'occurrence 39). Dans ces conditions d'inhibition, le 5-HTP-³H injecté dans l'allantoïde ne s'incorpore pas au niveau de l'épiphyse. Par contre, lors d'injections intrapéritonéales ou intraventriculaires du précurseur, un "uptake" faible est signalé par la présence de grains d'argent à répartition diffuse.

Par rapport aux injections intraventriculaires, les injections intrapéritonéales du précurseur permettent cependant d'abaisser l'intensité du marquage diffus dans l'épiphyse et dans l'ensemble des structures cérébrales dorsales (excepté celle du sac dorsal).

b) Avec le nialamide (inhibiteur des monoamine oxydases = IMAO)

Les résultats obtenus au niveau de l'épiphyse sont consignés dans les Tableaux IX, X et XI.

α - Injections de nialamide et de 5-HTP-³H dans l'allantoïde (stades 39 et 40)

Après inhibition des activités monoamine oxydasiques par le nialamide, le 5-HTP-³H, injecté dans l'allantoïde, est capté par l'épiphyse, 5h10 après l'injection du traceur au stade 39 et 4h05 après l'injection du traceur au stade 40 (Tableau IX). Les réactions radioautographiques spécifiques sont essentiellement localisées à la base de l'épithélium. Elles restent relativement faibles jusqu'au dernier temps de l'expérimentation (8h10) et elles apparaissent plus intenses au stade 40 qu'au stade 39.

Dans les mêmes conditions, l'oeil pariétal, le télencéphale dorsal, le tectum mésencéphalique et la paraphyse ne montrent que de rares grains d'argent épars, sans localisation spécifique. Le sac dorsal incorpore fortement le traceur mais les réactions radioautographiques y sont toujours diffuses.

β - Injections de nialamide dans l'allantoïde et injections intrapéritonéales de 5-HTP-³H (stades 39 et 40)

Dans ces conditions, on observe, dès la 1ère heure, un marquage spécifique au niveau des régions basales de l'épithélium épiphysaire (Tableau X). La comparaison des données, pour une série

TABEAU X

INJECTIONS DE NIALAMIDE DANS L'ALLANTOÏDE ET INJECTIONS INTRAPÉRITONÉALES DE 5-HTP-³H

Stades	Nialamide (15 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (5 μ Ci) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques
39	17-7-1972 à 18h45	18-7-1972 à 10h40	18-7-1972 à 11h40	1h	+
39	17-7-1972 à 18h48	18-7-1972 à 9h05	18-7-1972 à 11h35	2h30	mort
39	17-7-1972 à 18h49	18-7-1972 à 10h25	18-7-1972 à 14h10	3h45	++
39	17-7-1972 à 18h50	18-7-1972 à 9h50	18-7-1972 à 14h30	4h40	++
39	17-7-1972 à 18h51	18-7-1972 à 9h35	18-7-1972 à 15h15	5h40	++
39	17-7-1972 à 18h52	18-7-1972 à 9h20	18-7-1972 à 16h00	6h40	0
40	17-7-1972 à 18h58	18-7-1972 à 10h45	18-7-1972 à 11h45	1h	++
40	17-7-1972 à 19h00	18-7-1972 à 9h00	18-7-1972 à 11h35	2h35	+
40	17-7-1972 à 19h01	18-7-1972 à 10h30	18-7-1972 à 14h10	3h40	+
40	17-7-1972 à 19h02	18-7-1972 à 9h45	18-7-1972 à 14h30	4h45	+++
40	17-7-1972 à 19h03	18-7-1972 à 9h40	18-7-1972 à 15h10	5h30	+
40	17-7-1972 à 19h05	18-7-1972 à 9h15	18-7-1972 à 16h00	6h45	+++

d'individus au même stade (39 ou 40), montre que les réactions radioautographiques sont d'intensité très variable. Seuls, deux individus au stade 40 (Tableau X), présentent des réactions nettement plus intenses et plus étendues que celles observées chez des embryons ayant reçu uniquement du 5-HTP-³H (paragraphe 1).

Dans tous les cas examinés, notons également dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire, la présence de grains d'argent -à répartition diffuse- quantitativement plus importants que lors d'injections uniques de 5-HTP-³H (paragraphe 1). Il en est de même au niveau des structures mésencéphaliques et télencéphaliques dorsales et dans la paraphyse.

Le sac dorsal incorpore le précurseur dans des proportions assez voisines de celles observées dans la série précédente.

Dans l'oeil pariétal, les grains d'argent aussi bien dans la pellucide que dans la rétine, sont rares et leur répartition est toujours diffuse.

γ - Injections de nialamide dans l'allantoïde et injections de 5-HTP-³H dans le 3ème ventricule (stades 39 et 40)

Dans ces conditions, le 5-HTP-³H s'incorpore de façon massive au niveau de l'épiphyse (Tableau XI). Les réactions radioautographiques peuvent s'étendre sur toute la hauteur de l'épithélium, mais elles sont toujours plus intenses dans les régions épithéliales basales.

Dans une série donnée (stade 39 ou 40), les variations individuelles sont relativement faibles, quel que soit le temps de l'expérience considéré (Tableau XI).

Un marquage diffus et aspécifique s'observe également dans l'organe pinéal et dans les différentes structures cérébrales dorsales. Il est toujours plus important que celui rencontré lors d'injections intrapéritonéales de 5-HTP-³H après IMAO (paragraphe β et δ).

Le sac dorsal incorpore plus fortement le précurseur que dans la série précédente. Par contre, l'oeil pariétal ne réalise toujours pas "l'uptake" du 5-HTP-³H.

TABLEAU XI

INJECTIONS DE NIALAMIDE DANS L'ALLANTOÏDE ET DE 5-HTP-³H DANS LE 3^{ème} VENTRICULE

Stades	Nialamide (15 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (3 μ Cl) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S	Réactions radioautographiques
39	19-7-1972 à 17h17	20-7-1972 à 9h30	20-7-1972 à 10h35	1h05	+++
39	19-7-1972 à 17h19	20-7-1972 à 9h15	20-7-1972 à 11h15	2h00	0 (fortes hémorragies)
39	19-7-1972 à 17h21	20-7-1972 à 9h05	20-7-1972 à 11h55	2h50	±
39	19-7-1972 à 17h24	20-7-1972 à 8h40	20-7-1972 à 12h45	4h05	+++
39	19-7-1972 à 17h27	20-7-1972 à 8h25	20-7-1972 à 13h35	5h10	+++
39	19-7-1972 à 17h28	20-7-1972 à 8h15	20-7-1972 à 14h15	6h00	+++
39	19-7-1972 à 17h29	20-7-1972 à 9h35	20-7-1972 à 16h25	6h50	+++
39	19-7-1972 à 17h30	20-7-1972 à 8h00	20-7-1972 à 16h05	8h05	+++
40	17-7-1972 à 18h59	18-7-1972 à 10h55	18-7-1972 à 12h00	1h05	+++
40	17-7-1972 à 19h00	18-7-1972 à 11h00	18-7-1972 à 13h00	2h00	+++
40	17-7-1972 à 19h01	18-7-1972 à 11h10	18-7-1972 à 1415	3h05	+++
40	17-7-1972 à 19h02	18-7-1972 à 11h05	18-7-1972 à 15h05	4h00	+++

5 - Injectons de nialamide et de 5-HTP-³H dans la cavité abdominale (stade 40)

Les résultats sont reportés dans le paragraphe B₁.

En résumé : le nialamide, injecté dans l'allantoïde ou dans la cavité abdominale, inhibe les activités monoamine oxydasiques du moins aux stades 39 et 40 de l'embryogenèse. Dans ces conditions d'inhibition, le 5-HTP-³H injecté selon les 3 voies (intra-allantoïdienne, intraventriculaire et intrapéritonéale) s'incorpore dans l'épiphyse. Les injections intraventriculaires permettent d'obtenir dans des délais brefs, une augmentation particulièrement nette du taux des indolamines. Par cette technique, les résultats sont, par ailleurs, plus homogènes au sein d'une même série.

3° - Discussion

a) Méthodologie

α - Choix du précurseur

Contrairement au tryptophane, le 5-HTP ne conduit pas, ou tout au moins de façon secondaire (WILHOFT et QUAY, 1965), à une liaison avec d'autres acides aminés endogènes en vue de donner une chaîne polypeptidique par exemple.

Le 5-HTP-³H est donc principalement utilisé comme précurseur dans la biosynthèse des tryptamines neurohumorales.

La 5-HT-³H, quant à elle, ne s'incorpore pas au niveau de l'épiphyse de Lacerta (COLLIN et MEINIEL, 1973b, chez l'adulte). En conséquence, son utilisation sera écartée.

β - Modes d'injections du traceur

Le mode d'injection des acides aminés, par les voies allantoïdienne et intra-abdominale, permet difficilement d'envisager le détail des mécanismes d'élaboration, de migration et la destinée des protéines. En effet le traceur, injecté selon la voie intrapéritonéale, met plusieurs heures pour disparaître du plasma (LEBLOND et al., 1957 ; ROSS et BENDITT, 1965, cités par DROZ, 1967). Au contraire, introduit par voie intraveineuse, l'acide aminé tritié se distribue en moins de 2 minutes dans les organes, ce qui permet d'obtenir "un signal radioactif bref" (DROZ, 1967), indispensable lorsqu'il s'agit

d'analyser la séquence des événements intracellulaires.

Dans le cas précis du métabolisme du 5-HTP dans la pinéale, les processus impliqués sont très différents (COLLIN et MEINIEL, 1973a,b chez l'adulte de Lacerta) de ceux mis en jeu dans une synthèse protéique comme celle d'un polypeptide hormonal ou d'une protéine de structure. De plus, parmi les différents dérivés neuro-ectodermiques, la pinéale présente la particularité (tout au moins chez les Mammifères : QUAY, 1965a ; ARVY, 1966 ; WURTMAN et al., 1968 ; WOLSTENHOLME et KNIGHT, 1971 et chez les Oiseaux : références in COLLIN et al., 1976, où le phénomène est bien connu), de réaliser la biosynthèse de certains dérivés indoliques, comme la mélatonine, et d'assurer parallèlement le catabolisme d'une partie du "pool" sérotoninergique (Fig. 9).

Ainsi, l'utilisation du 5-HTP, dont tous les atomes d'hydrogène sont remplacés par le tritium, rend possible, à un certain moment, la détection de certains types de molécules dérivant du précurseur sans qu'il soit pour autant possible de connaître, sur les radioautographies, la nature même des molécules. De plus, la "dissociation" expérimentale des différentes voies métaboliques de la 5-HT est limitée (COLLIN et MEINIEL, 1973a). Ainsi, dans le cas précis qui nous intéresse ici -et en fonction de la permanence des réactions radioautographiques au niveau d'un type cellulaire particulier- un signal radioactif bref n'apporterait aucune précision supplémentaire sinon en fournissant une idée approximative de la durée de séjour, dans la pinéale, de la molécule de 5-HTP et de ses dérivés, et non sur le temps mis pour réaliser la synthèse de la mélatonine par exemple. Seuls les dosages, après signal radioactif court, peuvent actuellement apporter la réponse au problème de la durée de synthèse d'une indolamine donnée.

Ainsi, l'intérêt de notre étude embryologique, utilisant un protocole expérimental particulier, réside davantage dans la détection de types cellulaires engagés dans le métabolisme du 5-HTP. L'analyse de l'état de différenciation de certains systèmes enzymatiques, liés au métabolisme indolique, est également envisagé de façon indirecte.

b) Signification des réactions radioautographiques

L'interprétation des résultats, fournis par les méthodes radioautographiques, nécessite des données histophysiologiques et biochimiques, propres aux Lacertiliens, qu'il nous paraît nécessaire de passer succinctement en revue.

L'organe pinéal des Lacertiliens adultes réalise la synthèse et le stockage de la sérotonine (ou 5-hydroxytryptamine = 5-HT) (QUAY et WILHOFT, 1964 chez Sauromolus varius et Gerrhonotus multicarinatus ; WILHOFT et QUAY, 1965 chez Sceloporus occidentalis ; QUAY, JONGKIND et KAPPERS, 1967 ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969b ; VIVIEN-ROELS, PETIT et LICHTÉ, 1971 chez Lacerta), dans un type cellulaire particulier : le photorécepteur rudimentaire sécrétoire (COLLIN, 1967c, 1968c ; COLLIN et KAPPERS, 1968 ; COLLIN et MEINIEL, 1973a,b ; MEINIEL et COLLIN, 1970 ; MEINIEL, COLLIN et CALAS, 1972 ; MEINIEL, COLLIN et HARTWIG, 1973 ; chez Lacerta muralis, viridis et vivipara).

A notre connaissance, aucune étude biochimique, chez les Reptiles (adulte et embryon), n'a permis de démontrer la présence de mélatonine, par ailleurs connue dans l'organe pinéal des Poissons (FENWICK, 1970), des Amphibiens, des Oiseaux et des Mammifères (WURTMAN, AXELROD et KELLY, 1968). Cependant, dans l'épiphyse adulte de Cnemidophorus lemniscatus, Iguana iguana et Sceloporus occidentalis (QUAY, 1965b, 1971), la présence d'HIOMT (ou ASMT), enzyme qui méthyle la N-acétylsérotonine pour donner la mélatonine, permet d'envisager la biosynthèse de la mélatonine.

WILHOFT et QUAY (1965), dans le diencéphale de Sceloporus occidentalis, montrent l'existence d'acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA). D'autre part, COLLIN et MEINIEL (1973b), chez Lacerta vivipara (adulte), détectent une intense activité monoamine-oxydasique à l'apex de l'épithélium épiphysaire. La confrontation de ces résultats permet de suggérer, dans l'épiphyse adulte des Lacertiliens, une désamination oxydative de la 5-HT conduisant à la formation d'acide 5-hydroxyindolacétique et peut être des tryptophols (non encore identifiés chez les Reptiles adultes).

En conséquence -étant donné que le précurseur radioactif utilisé est à marquage général et que ses transformations "in vivo" affectent uniquement 2 radicaux du noyau indole- la radioactivité correspond théoriquement à un ensemble de molécules: 5-HTP non encore décarboxylé, 5-HT ainsi que tous ses dérivés (Fig. 9).

Ces considérations justifient l'emploi ultérieur "d'indolamines radioactives" pour désigner l'ensemble des molécules précédentes, susceptibles d'être marquées et ainsi d'être visualisées.

c) Choix des techniques

Compte tenu des résultats acquis précédemment à propos des indolamines endogènes et de l'étude critique de la méthodologie, nous retiendrons pour nos investigations les protocoles suivants :

1°) Pour l'étude du métabolisme indolique au stade 40 (paragraphe B₁)

- les injections intrapéritonéales de 5-HTP-³H
- les injections intrapéritonéales de Ro₄-4602 et de 5-HTP-³H
- les injections intrapéritonéales de nialamide et de 5-HTP-³H.

Pour cette dernière série, notre choix n'a pas été fait en fonction des meilleurs résultats obtenus lors de nos essais, mais nous avons considéré une comparaison entre les 3 séries expérimentales. Nous avons donc dû pratiquer le même type d'injection du traceur.

2°) Pour l'étude du métabolisme indolique au cours de l'ontogenèse (paragraphe B₂)

- les injections intrapéritonéales de 5-HTP-³H
- les injections intrapéritonéales de Ro₄-4602 et de 5-HTP-³H (témoins = 5-HTP-³H dans la cavité abdominale)
- les injections intrapéritonéales de nialamide et intraventriculaires de 5-HTP-³H (témoins = 5-HTP-³H dans le 3ème ventricule).

B - Etude du métabolisme indolique au cours de l'ontogenèse

1° - Métabolisme des indolamines au stade 40 (épiphyse distale)

Ces expériences ont été entreprises dans le but d'aborder dans des conditions optimales, l'étude du métabolisme indolique au cours de l'ontogenèse (paragraphe 2). Nous vérifions que les sites de stockage des indolamines endogènes (mises en évidence par la technique de FALCK et HILLARP) et exogènes sont concordants et nous considérons l'évolution de la concentration de la radioactivité entre la 15e minute et la 24e heure qui suivent l'injection du précurseur. Par ailleurs, nous apportons des précisions relatives au métabolisme indolique au stade 40, en examinant les conditions de synthèse, après l'injection de 5-HTP-³H, dans différentes situations induites expérimentalement.

En vue d'une confrontation des résultats, les conditions retenues pour cette étude ont été calquées sur celles usitées chez l'adulte de Lacerta (MEINIEL, COLLIN et CALAS, 1972 ; COLLIN et MEINIEL, 1973a,b).

a) Dans les conditions normales

α - Localisation des sites d'incorporation et d'utilisation du 5-HTP-³H

Cette expérience concerne 32 embryons. Les conditions expérimentales sont consignées dans le Tableau XII.

Un quart d'heure après l'injection de 5-HTP-³H, des réactions radioautographiques spécifiques sont détectées dans l'épithélium épiphysaire (Pl. XXVIII, fig. 1). L'incorporation de 5-HTP-³H a donc lieu entre 0 et 15 minutes.

A partir de la 15ème minute et jusqu'à la 4ème heure qui suit l'injection du traceur, l'intensité du marquage progresse (Pl. XXVIII, fig. 1 à 6) dans l'épithélium épiphysaire puis décroît (Pl. XXVIII, fig. 7 et 8) jusqu'à 10 heures (les réactions radioautographiques sont toujours plus intenses dans la

TABLEAU XII

INJECTIONS INTRAPERITONEALES DE 5-HTP-³H (60 μ Ci/gr)

Stade	5-HTP- ³ H (5 μ Ci) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S
40	16-7-1975 à 13h06	16-7-1975 à 13h21	15 mn
40	16-7-1975 à 13h04	16-7-1975 à 13h34	30 mn
40	16-7-1975 à 13h02	16-7-1975 à 13h47	45 mn
40	16-7-1975 à 13h01	16-7-1975 à 14h01	1 h
40	16-7-1975 à 13h00	16-7-1975 à 15h00	2 h
40	16-7-1975 à 12h57	16-7-1975 à 15h57	3 h
40	16-7-1975 à 12h55	16-7-1975 à 16h55	4 h
40	16-7-1975 à 12h53	16-7-1975 à 17h53	5 h
40	16-7-1975 à 12h45	16-7-1975 à 18h45	6 h
40	16-7-1975 à 12h40	16-7-1975 à 19h40	7 h
40	16-7-1975 à 12h37	16-7-1975 à 20h37	8 h
40	16-7-1975 à 12h35	16-7-1975 à 22h35	10 h
40	16-7-1975 à 12h32	17-7-1975 à 0h32	12 h
40	16-7-1975 à 12h28	17-7-1975 à 3h28	15 h
40	16-7-1975 à 12h28	17-7-1975 à 6h28	18 h
40	16-7-1975 à 12h25	17-7-1975 à 12h25	24 h

moitié basale de l'épithélium). Entre 12 heures et 24 heures, la radioactivité est très faible dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire (Pl. XXVIII, fig. 9). Au niveau des hémisphères cérébraux, du tectum mésencéphalique et de la paraphyse, les grains d'argent sont absents ou très rares aux différents temps de l'expérience. Par contre, le sac dorsal incorpore très fortement le précurseur, mais les grains d'argent, à l'inverse de l'épiphyse, se répartissent de façon diffuse.

Après coloration au bleu de toluidine, il apparaît que les réactions radioautographiques spécifiques, quel que soit le temps considéré de l'expérience, sont localisées au niveau des CLS. A l'opposé, les 2 autres types cellulaires (cellules interstitielles et neurones sensoriels) ne montrent pas de marquage.

Dans les CLS, la radioactivité affecte, dès la 15ème minute, les pédicules basaux et le cytoplasme périnucléaire et supranucléaire (Pl. XXIX, fig. 1). Jusqu'à la 3ème heure, elle s'intensifie dans ces mêmes régions cellulaires (Pl. XXIX, fig. 2, 3 et 4). Quatre et cinq heures après l'injection du précurseur, le marquage s'étend sur toute la hauteur des CLS (Pl. XXIX, fig. 5 et 6) ; il apparaît avec une intensité égale au niveau des segments internes, des corps cellulaires (excepté les noyaux) et des pédicules basaux.

Après la 5ème heure, les réactions radioautographiques diminuent progressivement d'intensité au niveau des segments internes mais jusqu'à la 10ème heure, elles restent toujours intenses dans les cytoplasmes périnucléaires et les pédicules basaux des CLS (Pl. XXX, fig. 1, 2 et 3).

Douze heures après l'injection de 5-HTP-³H, le faible marquage se localise toujours dans ces mêmes régions cellulaires (Pl. XXX, fig. 4). A la 18ème heure, de rares grains d'argent persistent encore dans les pédicules basaux des CLS (Pl. XXX, fig. 5).

A la 24ème heure, aucun grain d'argent ne s'observe au sein de l'épithélium épiphysaire (Pl. XXX, fig. 6).

B - Etude quantitative de l'évolution du taux des indolamines radioactives aux différents temps de l'expérience

La courbe (Fig. 11), établie à partir des différentes concentrations de radioactivité épithéliale, a sa partie ascendante entre un quart d'heure et 4 heures. Dans nos conditions expérimentales, le pic de radioactivité est obtenu à 4 heures.

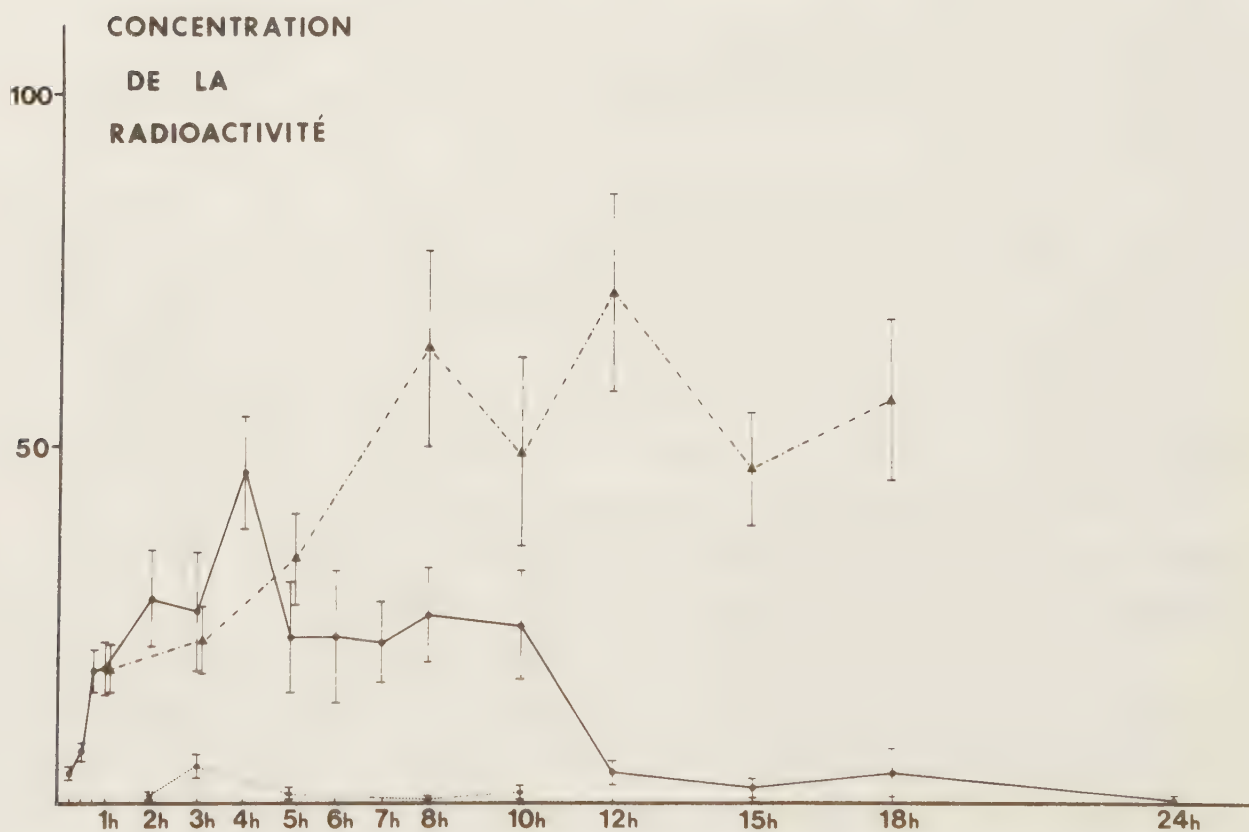


Fig. 11. Evolution de la concentration de la radioactivité dans l'épithélium épiphysaire, au stade 40.

————— 5-HTP-³H
 - - - - - Ro₄-4602 + 5-HTP-³H
 nialamide + 5-HTP-³H

A 5 heures la concentration de radioactivité épithéliale chute de moitié environ, puis reste stationnaire jusqu'à 10 heures. Elle décroît rapidement, entre 10 heures et 12 heures, pour rester très faible, entre 12 et 18 heures. Vingt quatre heures après l'injection du précurseur, aucune trace de radioactivité n'est décelable dans l'épithélium épiphysaire.

En résumé : les réactions radioautographiques spécifiques sont observées de façon constante dans les CLS. En conséquence, les variations de concentration de la radioactivité épithéliale se rapportent aux CLS.

b) Dans les conditions expérimentales

α - Après inhibition de l'activité 5-hydroxytryptophane
décarboxylasique

Cette expérience, menée parallèlement à la précédente (dont les individus sont utilisés comme témoins), concerne 10 embryons traités par le Ro₄-4602 cinq heures avant l'injection de 5-HTP-³H (voir Matériel et Méthodes). Les conditions expérimentales pour cette série sont consignées dans le Tableau XIII.

. Etude quantitative de l'évolution du taux des
indolamines radioactives

Quel que soit le temps de l'expérience considéré, les grains d'argent ne fournissent pas de réaction radioautographique spécifique (Pl. XXXI, fig. 2 et 4). Les concentrations de radioactivité, mesurées dans l'épithélium épiphysaire, sont toujours très faibles (Fig. 11). De plus, elles sont inférieures et de façon hautement significative (Tableau XV), à celles enregistrées aux mêmes temps de l'expérience chez les animaux de référence.

. Localisation des réactions radioautographiques

Le marquage est sensiblement le même dans les cellules interstitielles de type épendymaire, les CLS et les neurones sensoriels (Pl. XXXII, fig. 1 et 2). La répartition des grains

TABLEAU XIII

INJECTIONS DE RO₄4602 DANS L'ALLANTOÏDE ET INJECTIONS INTRAPERITONÉALES DE 5-HTP-³H (60 μ Ci/gr)

Stade	Ro ₄ 4602 (10 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (5 μ Ci) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S
40	15-7-1975 à 8h02	15-7-1975 à 12h50	15-7-1975 à 14h50	2 h
40	15-7-1975 à 8h05	15-7-1975 à 12h50	15-7-1975 à 15h50	3 h
40	15-7-1975 à 8h06	15-7-1975 à 12h45	15-7-1975 à 17h45	5 h
40	15-7-1975 à 8h07	15-7-1975 à 12h40	15-7-1975 à 20h40	8 h
40	15-7-1975 à 8h08	15-7-1975 à 12h40	15-7-1975 à 22h40	10 h

TABEAU XIV

INJECTIONS INTRAPERITONEALES DE NIALAMIDE ET DE $5\text{-HTP-}^3\text{H}$ ($60\mu\text{Ci/gr}$)

Stade	Nialamide ($4\mu\text{l}$) Injection (date et heure)	$5\text{-HTP-}^3\text{H}$ ($5\mu\text{Ci}$) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S
40	16-7-1975 à 22h	17-7-1975 à 13h10	17-7-1975 à 14h10	1 h
40	16-7-1975 à 22h02	17-7-1975 à 13h10	17-7-1975 à 16h10	3 h
40	16-7-1975 à 22h05	17-7-1975 à 13h05	17-7-1975 à 18h05	5 h
40	16-7-1975 à 22h07	17-7-1975 à 13h05	17-7-1975 à 21h05	8 h
40	16-7-1975 à 22h10	17-7-1975 à 13h05	17-7-1975 à 23h05	10 h
40	16-7-1975 à 22h12	17-7-1975 à 12h40	18-7-1975 à 0h40	12 h
40	16-7-1975 à 22h15	17-7-1975 à 12h30	18-7-1975 à 3h30	15 h
40	16-7-1975 à 22h16	17-7-1975 à 12h30	18-7-1975 à 6h30	18 h
40	16-7-1975 à 22h18	17-7-1975 à 12h20	18-7-1975 à 10h20	22 h (mort)

TABLeAU XV

Intervalle I-S après l'injection de 5-HTP- ³ H	CONCENTRATION DE LA RADIOACTIVITE $m \pm \sigma$		
	RO.4602 + 5-HTP- ³ H	5-HTP- ³ H	Nialamide + 5-HTP- ³ H
15 mn		$4,08 \pm 0,88$	
30 mn		$7,08 \pm 1,30$	
45 mn		$18,31 \pm 2,99$	
1 h		$18,60 \pm 3,74$	$18,62 \pm 3,26$ O
2 h	$0,84 \pm 0,50$	$28,53 \pm 6,81$ XX	
3 h	$5,04 \pm 1,50$	$26,48 \pm 8,39$ XX	$22,55 \pm 5,15$ O
4 h		$46,20 \pm 11,37$	
5 h	$1,16 \pm 0,75$	$22,91 \pm 7,85$ XX	$35,74 \pm 6,08$ XX
6 h		$23,14 \pm 9,89$	
7 h		$22,29 \pm 5,61$	
8 h	$0,27 \pm 0,31$	$26,22 \pm 6,62$ XX	$64,11 \pm 13,96$ XX
10 h	$1,42 \pm 0,81$	$24,79 \pm 7,67$ XX	$49,09 \pm 13,17$ XX
12 h		$4 \pm 1,65$ XX	$71,36 \pm 13,90$ XX
15 h		$1,92 \pm 1,35$ XX	$46,65 \pm 7,88$ XX
18 h		$1,04 \pm 3,33$ XX	$58,99 \pm 11,18$ XX
24 h		$0,13 \pm 0,28$	

m = moyenne des mesures photométriques (2 animaux ; 30 mesures par animal)

σ = écart type à la moyenne

Signification statistique par analyse selon le test "t" de Student

O = non significatif

XX = significatif avec un coefficient de sécurité $\geq 99\%$

d'argent, très régulièrement diffuse, ne donne jamais lieu à des accumulations dans un compartiment cellulaire donné. Tout au plus, signalons que les grains d'argent semblent légèrement plus nombreux dans les CLS.

β - Après inhibition des activités monoamine oxydasiques

Seize embryons ont reçu, 15 heures avant l'injection intrapéritonéale de 5-HTP-³H, une dose de nialamide. Les modalités expérimentales, pour cette série, sont consignées dans le Tableau XIV. Les individus de la première expérience (paragraphe 1 - a) sont utilisés comme témoins.

. *Etude quantitative de l'évolution du taux des indolamines radioactives*

Dans ces conditions, le précurseur fournit des réactions radioautographiques spécifiques d'intensité tout d'abord équivalente (1 heure après l'injection du traceur) ou légèrement plus faible (3 heures et même parfois 5 heures après l'injection du traceur ; Pl. XXXI, fig. 6) que celles obtenues chez les animaux de référence (Pl. XXXI, fig. 5). Après la 5ème heure, les réactions radioautographiques sont toujours beaucoup plus intenses (Pl. XXXI, fig. 8, 10 et 12) que chez les témoins (Pl. XXXI, fig. 7, 9 et 11).

Dans les structures contiguës à l'épiphyse, l'intensité du marquage diffus est approximativement le même ou très légèrement supérieur, à un temps donné, à celui noté lors des injections uniques de 5-HTP-³H.

L'étude microphotométrique montre que la radioactivité, chez les animaux traités par l'inhibiteur des monoamine oxydases, augmente de façon hautement significative (Fig. 11) au sein de l'épithélium épiphysaire, jusqu'à la 8ème heure de l'expérience. Les différences de concentration de radioactivité (exprimées par l'aspect en "dents de scie" de la courbe), enregistrées entre la 8ème et la 18ème heures, pourraient se rapporter à des variations individuelles, toujours très importantes dans ce type d'expérimentation (voir paragraphe A).

Enfin, par rapport aux animaux de référence, le marquage ne varie pas après une heure, ou est sensiblement abaissé à la 3ème heure (Tableau XV). Au contraire, aux autres temps considérés dans cette expérience (entre 5 et 18 heures), il est très significativement supérieur (Tableau XV).

. Localisation des réactions radioautographiques

Après coloration au bleu de toluidine, les réactions radioautographiques spécifiques se localisent toujours, mais avec une intensité variable selon le temps considéré de l'expérience, au niveau du segment interne, du cytoplasme péri-nucléaire et du pédicule basal des CLS (Pl. XXXII, fig. 3 à 6).

Un marquage diffus, sensiblement plus intense que lors d'injection unique de 5-HTP-³H, affecte les cellules interstitielles de type épendymaire. Par contre, les grains d'argent sont toujours très rares dans les neurones sensoriels (Pl. XXXII, fig. 3 à 6).

Ainsi, les variations du taux des indolamines radioactives se rapportent, pour l'essentiel, aux CLS.

c) Discussion

α - Incorporation du 5-HTP-³H dans les conditions normales

Quel que soit le moment considéré de l'expérience, la radioactivité, après injection de 5-HTP-³H, est localisée de façon spécifique dans les CLS. Ces résultats s'harmonisent avec ceux énoncés précédemment, concernant la détection du 5-HTP et/ou de la 5-HT au stade 40 de l'embryogenèse, par la technique de FALCK et HILLARP.

Si l'on considère :

1 - que le 5-HTP-³H s'incorpore rapidement et uniquement dans les CLS,

2 - que la 5-HTPD représente une étape limitante dans la biosynthèse de la sérotonine (WILHOFT et QUAY, 1965),

3 - les résultats fournis après inhibition de la 5-HTPD

(5-hydroxytryptophane décarboxylase), il semble que les CLS participent non seulement au stockage de la 5-HT, mais encore réalisent la biosynthèse de cette amine.

La persistance des réactions radioautographiques dans les CLS -depuis la 15ème minute jusqu'à la 18ème heure de l'expérience- renforce la précédente conclusion et permet de suggérer que l'ensemble des processus relatifs au métabolisme du 5-HTP-³H prend place dans ces cellules.

Chez l'embryon, le pic de radioactivité correspondant, au stade 40, à l'incorporation maximum du précurseur et de ses dérivés tritiés se situe aux alentours de la 4ème heure alors que chez l'adulte, il est enregistré au delà de la 5ème heure. Par ailleurs, chez l'embryon, le marquage subsiste moins longtemps dans l'épiphyse ; en effet, au bout de la 24ème heure, celle-ci est totalement dépourvue de radioactivité alors que chez l'adulte un marquage y est encore décelé après la 48ème heure. En conséquence, il semblerait que le "turn-over" des indolamines, dans l'épiphyse embryonnaire, soit plus rapide que dans l'épiphyse adulte. Cependant, il faut considérer, chez l'adulte, que le pic de radioactivité (COLLIN et MEINIEL, 1973a) est obtenu en fin de période diurne. Or les dosages biochimiques (VIVIEN-ROELS, PETIT et LICHTÉ, 1971) ont montré, chez l'adulte de Lacerta muralis, que le taux de 5-HT augmente au cours de la journée pour atteindre un maximum en fin de phase diurne ; les conditions expérimentales étant ainsi favorables au stockage de la 5-HT-³H chez l'adulte (COLLIN et MEINIEL, 1973a). L'absence de données relatives à une éventuelle rythmicité des indolamines, chez l'embryon, rend difficile, malgré des conditions expérimentales identiques, une comparaison avec l'adulte.

β - Incorporation de 5-HTP-³H après inhibition d'enzymes impliquées dans le métabolisme de la 5-HT

L'activité 5-hydroxytryptophane décarboxylasique (5-HTPD) a pu être démontrée dans la pinéale des Mammifères (cf. rev. in WURTMAN et al., 1968) et des Oiseaux (WAINWRIGHT, 1974). Le Rat, la Vache, le Porc et le Lapin (cf. Rev. in WURTMAN et al., 1968) sont considérés comme possédant une activité 5-HTPD plus élevée

dans l'épiphyse que dans tout autre organe. FALCK, OWMAN et ROSENGREN (1966) montrent qu'après l'injection de Ro_4 -4602, inhibiteur de l'enzyme de décarboxylation, 80% de la 5-HT disparaît de la glande. Ces auteurs concluent, à l'appui de plusieurs arguments, que ces différences correspondent non pas à un mécanisme de déplétion aminergique, mais plutôt à une inhibition enzymatique.

Après traitement des embryons (Ro_4 -4602 + 5-HTP- ^3H), deux faits importants peuvent être retenus :

1 - la répartition des grains d'argent est, dans tous les cas, diffuse au niveau de l'organe pinéal. Le même type de marquage se retrouve, avec une intensité très voisine et assez minime, dans l'épiphyse et les structures nerveuses qui lui sont contiguës (exceptée celle du sac dorsal) ;

2 - par rapport aux animaux de référence, une chute très significative du taux de la radioactivité épithéliale est enregistrée.

Ces résultats, très similaires à ceux obtenus chez l'adulte (COLLIN et MEINIEL, 1973b), constituent un argument indirect en faveur de l'existence de la 5-HTPD dans l'organe pinéal de Lacerta, à ce stade de l'embryogenèse. Par ailleurs, compte tenu de la rapide incorporation du précurseur au niveau des CLS et du marquage permanent dans ces mêmes cellules, on peut suggérer que l'activité 5-HTPD se situe dans le type cellulaire stockant la 5-HT (COLLIN et MEINIEL, 1973b, chez l'adulte).

Dans d'autres catégories cellulaires d'origine neuroectodermique, telles que les cellules à calcitonine (LE DOUARIN et LE LIEVRE, 1970 ; PEARSE et POLAK, 1971) ou celles du corps carotidien (LE DOUARIN, LE LIEVRE et FONTAINE, 1972) qui sont capables de synthétiser soit la 5-HT, soit la dopamine à partir de leurs précurseurs immédiats (PEARSE et al., 1973), l'enzyme de décarboxylation est présente (HAKANSON, OWMAN et SUNDLER, 1971, pour les cellules à calcitonine). Les amino-acide décarboxylases caractériseraient d'ailleurs toutes les cellules de la lignée APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) définies par PEARSE (1969). Dans l'épiphyse adulte de Lacerta (COLLIN et MEINIEL, 1973b), plusieurs faits suggèrent également que l'activité 5-HTPD pourrait se situer au niveau des PRS, cellules

caractérisées par un stockage de 5-HT (COLLIN, 1967c, 1968c).

La localisation exacte des sites d'activité de l'enzyme ne pourra être établie que par une méthode cytochimique adéquate, éventuellement cyto-immunologique, comme celle qui a été préconisée par HÖKFELT et al., (1973) pour la dopa-décarboxylase.

Les monoamine oxydases (MAO), responsables de la désamination oxydative, jouent un rôle particulièrement important dans le catabolisme de la 5-HT (WURTMAN, AXELROD et KELLY, 1968).

Les résultats obtenus à la suite du double traitement des embryons par le nialamide (IMAO) et le 5-HTP-³H conduisent aux considérations suivantes :

1 - le marquage de la molécule de 5-HTP-³H étant général, la courbe "nialamide + 5-HTP-³H" correspond à des concentrations de radioactivité fournies par des molécules de 5-HTP (non encore décarboxylées), surtout de 5-HT et éventuellement de N-acétyl-sérotinine et de mélatonine qui n'auraient pas encore été excrétées (Fig. 9) ;

2 - au contraire, à chaque point de la courbe obtenue avec le 5-HTP-³H seul, correspond une concentration de radioactivité, fournie par les molécules précédentes, en proportion différente (surtout pour la 5-HT), et les composés issus de la désamination oxydative de la 5-HT non encore excrétés (Fig. 9).

En conséquence, les différences très significatives entre les points des courbes 5-HTP-³H et nialamide + 5-HTP-³H après 8 heures se rapportent aux variations du taux de la 5-HT. Ces mêmes différences doivent s'interpréter, comme représentant le phénomène d'excrétion des produits du catabolisme de la 5-HT (5-HIAA notamment), et, en conséquence, elles expriment l'importance de la voie catabolique de la 5-HT chez l'embryon de Lacerta dans la mesure, néanmoins, où l'IMAO n'interfère pas sur d'autres processus physiologiques.

La faible pente qui caractérise, aux premières heures de l'expérimentation (entre 1h et 8h), la courbe IMAO + 5-HTP-³H chez l'embryon, apparaît assez énigmatique et pas seulement imputable à nos conditions expérimentales. En effet, chez l'adulte même après un signal radioactif long, le taux des indolamines

radioactives, chez les individus traités par l'IMAO, est beaucoup plus intense que chez les animaux de référence dès la 3ème heure de l'expérience. Ces résultats sont cependant conformes à ceux que nous avons obtenus par la technique de FALCK et HILLARP (paragraphe 1). Il n'en reste pas moins vrai qu'ils apparaissent en contradiction avec la présence d'une activité MAO se montrant intense après application de méthodes histoenzymologiques (voir ultérieurement). On peut suggérer à titre d'hypothèses :

1 - que le temps d'action du nialamide (15 heures + 8 heures) est insuffisant pour obtenir une inhibition totale des activités MAO. Notons cependant qu'après 15 heures nous avons une inhibition histochimiquement complète par l'IMAO ;

2 - qu'il existe des variations de l'activité MAO en rapport avec une rythmicité endogène du métabolisme neurohumoral.

Après inhibition de l'activité MAO par le nialamide, l'augmentation de la concentration de la radioactivité dans le temps a lieu dans les sites naturels de stockage de la 5-HT, sans migration notable de 5-HT dans d'autres types cellulaires. Il semble donc que les MAO responsables de la désamination oxydative d'une grande partie du "pool" sérotoninergique épiphysaire se situent au niveau des cellules qui stockent la 5-HT. Dans d'autres cellules d'origine neuroectodermique, dépourvues de caractères typiques du neurone, une telle situation est d'ailleurs reconnue. C'est ainsi que les cellules à calcitonine sont capables de synthétiser la 5-HT (ERICSON, 1972), mais encore d'en assurer son catabolisme grâce à l'activité MAO, histochimiquement décelée par LARSON, OWMAN et SUNDLER (1966) et par TJÄLVE (1971) dans les mêmes cellules.

En conclusion, les résultats, obtenus après injection de 5-HTP-³H chez l'embryon au stade 40 et chez l'adulte (COLLIN et MEINIEL, 1973a,b) dans les conditions normales et expérimentales, sont très similaires. Les CLS -du moins dans la région distale- sont engagées dans la biosynthèse, le stockage et le catabolisme de la 5-HT.

Comme mentionné dans l'introduction de ce paragraphe, cette étude permet d'aborder dans des conditions favorables les recherches expérimentales qui suivent.

2° - Métabolisme indolique au cours de l'ontogenèse

L'étude radioautographique, envisagée au stade 40, a permis de montrer la spécificité et la permanence du marquage au niveau des CLS. On peut donc, grâce à des techniques radioautographiques combinées à des études microphotométriques, préciser les variations du taux des indolamines au cours de l'ontogenèse et analyser de façon indirecte, l'état de maturation de certains systèmes enzymatiques impliqués dans les biosynthèses indoliques (en interférant sur le métabolisme avec des drogues). Par ailleurs, en appliquant une technique histochimique nous détectons les activités monoamine oxydasiques.

Considérant la mise en évidence d'une pluralité des cellules de type sensoriel au cours de l'ontogenèse (Chapitre III), nous abordons également par des méthodes radioautographiques ultrastructurales le problème de l'identification du type de CLS capable de capter et d'utiliser le précurseur. Nous précisons par ailleurs les rapports qui existent entre l'état de différenciation cytologique des CLS et leur aptitude à synthétiser et stocker des indolamines.

a) Incorporation du 5-HTP-³H

Cette expérience concerne 12 embryons et 2 nouveau-nés de 3 jours. Les modalités expérimentales sont consignées dans le Tableau XVI.

L'étude comparative des sites de stockage des indolamines, au cours de l'ontogenèse et 3 jours après la naissance, a été réalisée 5 heures après l'injection du précurseur. Cet intervalle de temps injection-sacrifice, nous a paru favorable, puisqu'au stade 40 (voir paragraphe 1), le maximum d'incorporation a lieu aux alentours de 4 heures.

Considérant les variations importantes du taux des indolamines radioactives en fonction du temps (stade 40, paragraphe 1), il était nécessaire de se placer dans des conditions identiques. En conséquence, quel que soit le stade considéré, tous les individus sont sacrifiés 5 heures après l'injection du traceur.

De plus, en vue d'exclure toute interférence d'une

TABEAU XVI

Stades	Doses 60 μ Ci/gr	Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S
35	3 μ Ci	5-7-1973 à 12h00	5-7-1973 à 17h00	5 h
35	3 μ Ci	5-7-1973 à 12h00	5-7-1973 à 17h00	5 h
36	3 μ Ci	5-7-1973 à 12h05	5-7-1973 à 17h05	5 h
36	3 μ Ci	5-7-1973 à 12h05	5-7-1973 à 17h05	5 h
37	3,5 μ Ci	7-7-1973 à 12h00	7-7-1973 à 17h00	5 h
37	3,5 μ Ci	7-7-1973 à 12h00	7-7-1973 à 17h00	5 h
38	4 μ Ci	7-7-1973 à 12h05	7-7-1973 à 17h05	5 h
38	4 μ Ci	7-7-1973 à 12h05	7-7-1973 à 17h05	5 h
39	5 μ Ci	11-7-1973 à 12h00	11-7-1973 à 17h00	5 h
39	5 μ Ci	11-7-1973 à 12h00	11-7-1973 à 17h00	5 h
40	6 μ Ci	11-7-1973 à 12h05	11-7-1973 à 17h05	5 h
40	6 μ Ci	11-7-1973 à 12h05	11-7-1973 à 17h05	5 h
3 jours après naissance	8 μ Ci	24-7-1973 à 12h00	24-7-1973 à 17h00	5 h
	8 μ Ci	24-7-1973 à 12h00	24-7-1973 à 17h00	5 h

éventuelle rythmicité endogène du métabolisme indolique sur le taux des indolamines, le sacrifice des embryons a toujours lieu à la même heure. Dans le cas où cette rythmicité existe, il nous paraît raisonnable de supposer que sa périodicité ne subit pas de variations, au cours de la vie strictement intra-utérine.

α - Répartition de la radioactivité aux différents stades embryonnaires et au 3ème jour qui suit la naissance

Stade 35 : aucune réaction radioautographique spécifique n'est observée. La distribution des grains d'argent est régulière dans les différentes catégories cellulaires : CLS, cellules "interstitielles" de type épendymaire, et neurones sensoriels (Pl. XXXV, fig. 1). Par ailleurs, l'intensité du marquage diffus est voisine de celle observée, au niveau du télencéphale et du mésencéphale dorsal, de la paraphyse et des structures conjonctives périphériques (Pl. XXXIII, fig. 3). Dans le sac dorsal, on constate une rétention importante du précurseur ; néanmoins, la répartition des grains d'argent y est diffuse (Pl. XXXIII, fig. 3).

Stade 36

Epiphyse distale : c'est à ce stade, qu'apparaissent des concentrations de grains d'argent, localisés essentiellement à la base de l'épithélium épiphysaire, près de la lamelle basale (Pl. XXXIII, fig. 4). Quelques amas de grains se disposent, en fines "traînées", depuis la région basale jusqu'à la région moyenne de l'épithélium. Après coloration au bleu de toluidine, le marquage se localise spécifiquement dans les pédicules basaux, le corps cellulaire (sauf le noyau) et la région supranucléaire des CLS (Pl. XXXV, fig. 2). Dans les autres types cellulaires, les grains d'argent sont très rares ou absents (Pl. XXXV, fig. 2).

Epiphyse moyenne : quelques amas de grains d'argent constituent un fin liseré basal discontinu (Pl. XXXIII, fig. 4). Ces réactions radioautographiques caractérisent les pédicules basaux des CLS.

Epiphyse proximale : les grains d'argent sont rares et ne présentent pas de localisation spécifique (Pl. XXXIII, fig. 4).

Dans le télencéphale dorsal, le tectum mésencéphalique, la paraphyse, le sac dorsal et le conjonctif périphérique, le marquage diffus est de même intensité que celui observé au stade 35.

Stade 37

Epiphyse distale : l'intensité des réactions radioautographiques spécifiques progresse très faiblement à la base de l'épithélium épiphysaire. Elle traduit une légère augmentation du taux des indolamines tritiées au niveau des pédicules basaux des CLS (Pl. XXXV, fig. 3).

Epiphyse moyenne : le liseré basal radioactif semble plus accentué qu'au stade précédent. La localisation des réactions spécifiques est identique à celle décrite dans cette même région épiphysaire, au stade 36.

Epiphyse proximale : elle ne permet pas de déceler de réactions radioautographiques.

Dans les différents tissus proches de l'épiphyse, de même que dans les cellules "interstitielles" et les neurones épiphysaires (Pl. XXXV, fig. 3), le marquage diffus reste d'intensité comparable à celui noté aux stades précédents.

Stade 38

Epiphyse distale : on constate une nette augmentation de l'intensité des réactions radioautographiques spécifiques, à la base de l'épithélium épiphysaire (Pl. XXXIV, fig. 1). D'autre part, de nombreuses "traînées" de grains, déjà décrites au stade 36, parcourent l'épithélium depuis sa région basale jusqu'à sa région presque apicale (en bordure de la lumière épiphysaire). Après coloration au bleu de toluidine, les indolamines radioactives se localisent au niveau de cellules sombres = CLS, essentiellement dans leur région basale, mais également dans leur cytoplasme périnucléaire (Pl. XXXV, fig. 4).

Epiphyse moyenne : les réactions basales s'intensifient légèrement et les zones de marquage progressent vers la région moyenne de l'épithélium (Pl. XXXIV, fig. 1). Ces images traduisent une augmentation du taux des indolamines tritiées au niveau

des pédicules basaux et des corps cellulaires de certaines CLS.

Épiphyse proximale : les grains d'argent, relativement rares, ont une répartition diffuse dans les différents types cellulaires épiphysaires ainsi que dans les structures voisines (excepté celle du sac dorsal).

Stade 39

Épiphyse distale : par rapport au stade précédent, le marquage est nettement plus intense (Pl. XXXIV, fig. 2). On constate également une augmentation du nombre des CLS, caractérisées par une rétention d'indolamines tritiées (Pl. XXXVI, fig. 1).

Épiphyse moyenne : (voir épiphyse distale).

Épiphyse proximale : aucune réaction n'est décelée dans les différents types cellulaires, de même que dans les structures cérébrales contiguës à l'épiphyse. Le marquage diffus ne semble pas varier d'intensité par rapport aux stades précédents.

Stade 40 : c'est à ce stade de l'embryogenèse, que les réactions radioautographiques spécifiques sont les plus intenses et les plus étendues.

Épiphyse distale : le marquage est très intense, à la base de l'épithélium épiphysaire. On observe également des grains d'argent regroupés en triangles irréguliers à base large dont le sommet opposé peut atteindre la bordure de la lumière épiphysaire (Pl. XXXIV, fig. 3). Après coloration au bleu de toluidine, ces réactions se superposent à des CLS -au niveau de leurs différentes régions cellulaires (Pl. XXXVI, fig. 2). Cependant toutes les CLS ne présentent pas la même affinité pour le précurseur. Ainsi, sur certaines d'entre elles (Pl. XXXVI, fig. 2), s'observent de rares grains d'argent à distribution éparse. Ce marquage est comparable à celui des autres types cellulaires n'appartenant pas à la lignée sensorielle. L'étude radioautographique ultrastructurale précisera ultérieurement cette différence de comportement des CLS vis-à-vis du traceur.

Épiphyse moyenne : (voir épiphyse distale).

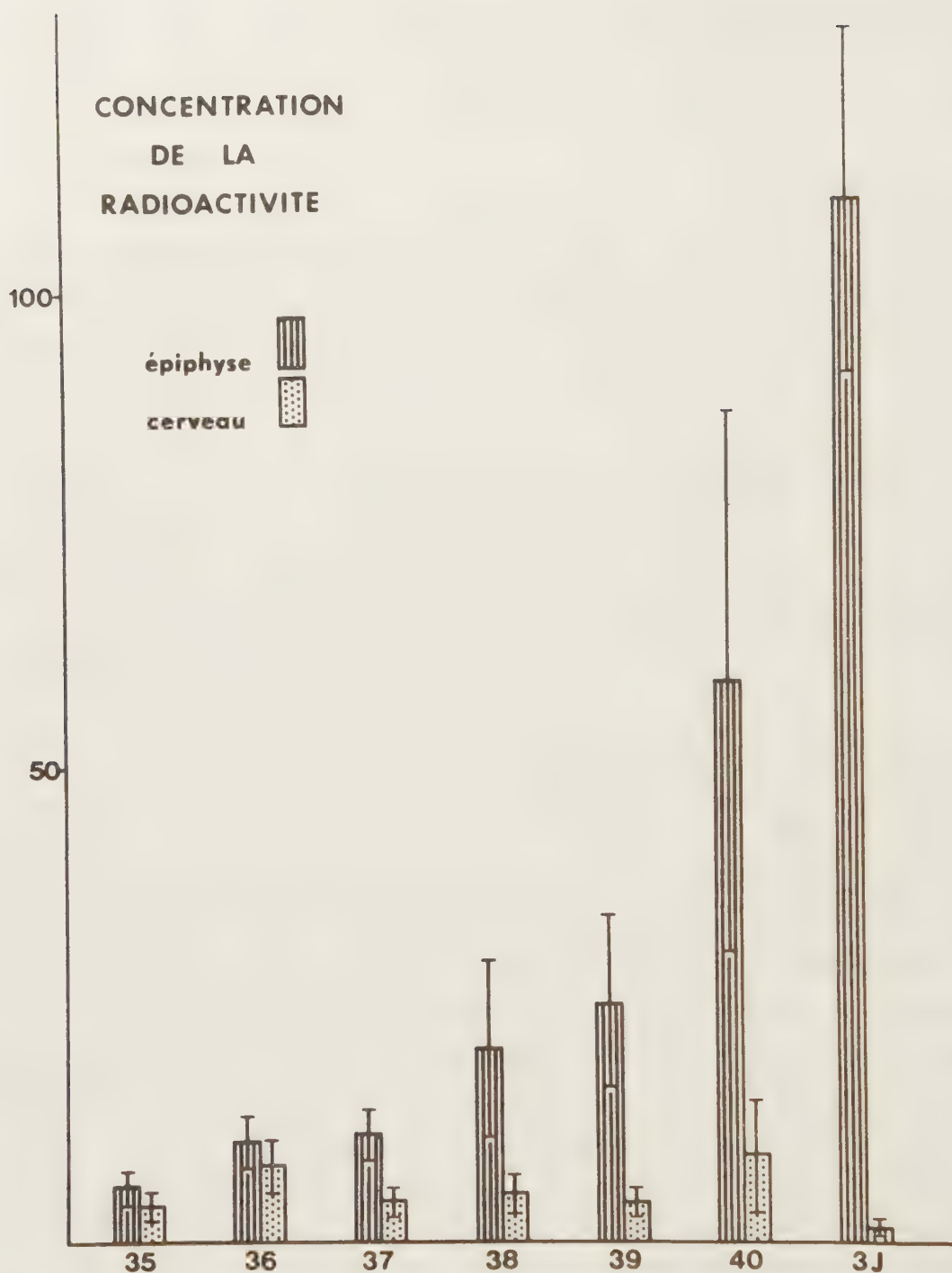


Fig. 12. Représentation de la moyenne des concentrations de radioactivité des indolamines pour l'épiphyse et le cerveau, au cours de l'ontogénèse (stades 35 à 40) et 3 jours après la naissance.

Épiphyse proximale : des concentrations de grains apparaissent à la base de l'épithélium. Après coloration au bleu de toluidine, elles se localisent dans les pédicules basaux des CLS.

Dans les structures contiguës à l'épiphyse, l'intensité des réactions diffuses semble inchangée par rapport aux stades précédents.

3 jours après la naissance : il faut noter que la zonation, observée tout au long de la vie embryonnaire, entre épiphyse distale, moyenne et proximale, semble avoir disparu ou s'être fortement atténuée (Pl. XXXIV, fig. 4). Par ailleurs, on constate une nette augmentation du nombre des CLS caractérisées par une rétention d'indolamines tritiées (Pl. XXXIV, fig. 4) et une intensité accrue des réactions dans leurs différents compartiments cellulaires (Planche XXXVI, fig. 3).

Le sac dorsal n'incorpore plus le précurseur radioactif (Pl. XXXIV, fig. 4).

β - Etude microphotométrique de l'évolution de la concentration de radioactivité

Le diagramme (Fig. 12), établi à partir des concentrations de radioactivité (Tableau XVII) mesurées dans l'ensemble de l'épithélium (épiphyse distale, moyenne et proximale), montre une augmentation hautement significative (Tableau XVII) du taux des indolamines tritiées, depuis le stade 36 où sont décelées les réactions spécifiques, jusqu'au 3ème jour qui suit la naissance. Les plus fortes augmentations de concentration de radioactivité sont enregistrées en fin d'embryogenèse (stade 40) et après la naissance (Fig. 12).

Par contre, les concentrations de radioactivité cérébrale (Fig. 12), mesurées dans le télencéphale et le mésencéphale dorsaux, montrent qu'au cours de l'ontogenèse, puis après la naissance, le taux des indolamines tritiées varie faiblement (Tableau XVII).

TABLEAU XVII

Stades	Concentration de la radioactivité au niveau de l'épithélium épiphyssaire $m \pm \sigma$	Test de la variable "t" de Student	Concentration de la radioactivité au niveau du cerveau $m \pm \sigma$
35	$5,75 \pm 1,85$	XX	$3,85 \pm 1,43$
36	$10,48 \pm 2,73$	0	$8,00 \pm 2,78$
37	$11,26 \pm 4,77$	XX	$4,29 \pm 1,63$
38	$20,30 \pm 9,19$	XX	$5,03 \pm 2,20$
39	$24,90 \pm 8,83$	XX	$3,87 \pm 1,42$
40	$59,16 \pm 28,56$	XX	$9,13 \pm 5,99$
3j	$109,73 \pm 17,88$		$1,20 \pm 0,76$

m = moyenne des mesures photométriques (2 animaux à chaque stade, 30 mesures par animal)

σ = écart type à la moyenne

Signification statistique par analyse selon le test "t" de Student

0 = non significatif

XX = significatif avec un coefficient de sécurité $\gg 99\%$

b) Incorporation du 5-HTP-³H après action de drogues interférant sur le métabolisme indolique

Afin de préciser -de façon indirecte- l'état de maturation, au cours de l'ontogenèse, de certains systèmes enzymatiques impliqués dans la biosynthèse des indolamines, nous avons injecté, à différents stades, deux drogues qui interfèrent sur le métabolisme indolique et avons confronté nos résultats avec ceux obtenus chez des individus témoins (ayant reçu uniquement du 5-HTP-³H).

TABLEAU XVIII

INJECTIONS INTRAPERITONEALES DE 5-HTP-³H

Stades	Doses 60 µCi/gr	Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S
36	3µCi	5-7-1973 à 12h00	5-7-1973 à 14h00	2 h
36	3µCi	5-7-1973 à 12h00	5-7-1973 à 14h00	2 h
37	3,5µCi	7-7-1973 à 11h55	7-7-1973 à 13h55	2 h
37	3,5µCi	7-7-1973 à 11h55	7-7-1973 à 13h55	2 h
38	4µCi	7-7-1973 à 12h00	7-7-1973 à 14h00	2 h
38	4µCi	7-7-1973 à 12h00	7-7-1973 à 14h00	2 h
39	5µCi	11-7-1973 à 11h55	11-7-1973 à 13h55	2 h
39	5µCi	11-7-1973 à 11h55	11-7-1973 à 13h55	2 h
40	6µCi	11-7-1973 à 12h00	11-7-1973 à 14h00	2 h
40	6µCi	11-7-1973 à 12h00	11-7-1973 à 14h00	2 h

TABLEAU XIX

INJECTIONS INTRAPERITONEALES DE RO₄602 ET DE 5-HTP-³H

Stades	RO ₄ 602 (10 μ l) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (60 μ Ci/g) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S
36	5-7-1973 à 8h00	5-7-1973 à 12h05	5-7-1973 à 14h05	2 h
36	5-7-1973 à 8h00	5-7-1973 à 12h05	5-7-1973 à 14h05	2 h
37	7-7-1973 à 7h50	7-7-1973 à 12h05	7-7-1973 à 14h05	2 h
37	7-7-1973 à 7h50	7-7-1973 à 12h05	7-7-1973 à 14h05	2 h
38	7-7-1973 à 7h50	7-7-1973 à 12h10	7-7-1973 à 14h10	2 h
38	7-7-1973 à 7h50	7-7-1973 à 12h10	7-7-1973 à 14h10	2 h
39	11-7-1973 à 8h00	11-7-1973 à 12h05	11-7-1973 à 14h05	2 h
39	11-7-1973 à 8h00	11-7-1973 à 12h05	11-7-1973 à 14h05	2 h
40	11-7-1973 à 8h00	11-7-1973 à 12h10	11-7-1973 à 14h10	2 h
40	11-7-1973 à 8h00	11-7-1973 à 12h10	11-7-1973 à 14h10	2 h

α - Action du Ro₄-4602 au cours de l'ontogenèse

L'étude comparée (entre individus témoins et traités par le Ro₄-4602), entreprise aux stades concernés par des biosynthèses indoliques (36 à 40), a été réalisée 2 heures après l'injection de 5-HTP-³H. Cet intervalle de temps injection-sacrifice nous a paru favorable puisque, chez l'embryon au stade 40, les différences entre individus de références et individus traités par l'inhibiteur de la 5-hydroxytryptophane décarboxylase sont évidentes 2 heures après l'injection du traceur (voir paragraphe 1).

Les modalités expérimentales que nous avons retenues pour les animaux de références (injection de 5-HTP-³H) et pour les animaux traités (Ro₄-4602 + 5-HTP-³H) sont absolument identiques et sont respectivement consignées dans les Tableaux XVIII et XIX.

. Analyse microphotométrique

Le diagramme (Fig. 13), établi à partir des concentrations de radioactivité mesurées dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire, montre que le taux des indolamines radioactives après action du Ro₄-4602 est très significativement abaissé (Tableau XX) aux stades 37, 38, 39 et 40 par rapport à celui des embryons de références. Par contre, au stade 36, les variations du taux des indolamines, chez les individus témoins et traités, n'apparaissent pas significatives (Tableau XX).

. Répartition de la radioactivité

Chez les embryons témoins (injectés uniquement au 5-HTP-³H), le marquage, quel que soit le stade considéré (36 à 40), est strictement localisé dans les CLS, selon des modalités très proches de celles décrites dans le paragraphe a, mais avec une intensité plus faible qui est en relation avec la durée d'incorporation du traceur (2 heures au lieu de 5 heures) et ceci conformément aux données antérieures (stade 40, paragraphe 1).

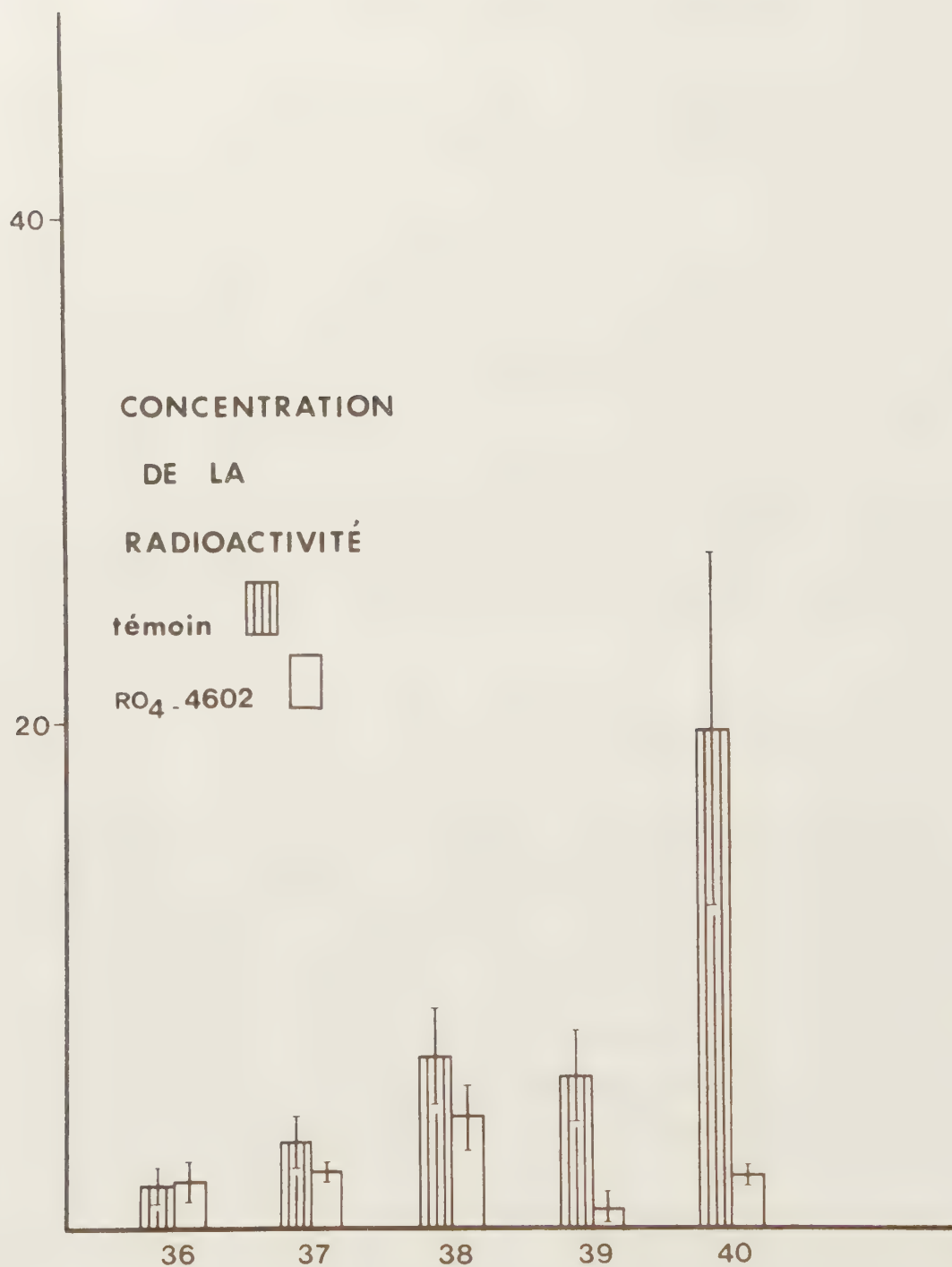


Fig. 13. Représentation de la moyenne des concentrations de radioactivité des indolamines pour l'épiphyse, dans les conditions normales (5-HTP-³H) et après inhibition de la 5-hydroxytryptophane décarboxylase (Ro₄-4602 + 5-HTP-³H), au cours de l'ontogenèse (stades 36 à 40).

TABLEAU XX

Stades	CONCENTRATION DE LA RADIOACTIVITE $m \pm \sigma$	
	5-HTP- ³ H	RO ₄ 4602 + 5-HTP- ³ H
36	1,72 $\pm$ 0,74	1,78 $\pm$ 0,78
	0	
37	3,40 $\pm$ 0,96	2,24 $\pm$ 0,42
	XX	
38	6,77 $\pm$ 1,88	4,47 $\pm$ 1,31
	XX	
39	6,07 $\pm$ 1,85	0,75 $\pm$ 0,63
	XX	
40	19,71 $\pm$ 7,02	2,10 $\pm$ 0,43
	XX	

m = moyenne des mesures photométriques (2 animaux à chaque stade,
30 mesures par animal)

σ = écart type à la moyenne

Signification statistique par analyse selon le test "t" de Student

0 = non significatif

XX = significatif avec un coefficient de sécurité $\geq 99\%$

Chez les individus traités par l'inhibiteur de la 5-hydroxytryptophane décarboxylase, le marquage, quel que soit le stade considéré (36 à 40), est réparti dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire. Il affecte, avec une intensité égale, les cellules interstitielles, les CLS et les neurones sensoriels. Ce marquage diffus est cependant légèrement plus intense que celui observé dans les structures cérébrales proches de l'épiphyse (exceptée celle du sac dorsal).

TABLEAU XXI

INJECTIONS DE 5-HTP- ^3H DANS LE 3 $^{\text{e}}$ ME VENTRICULE

Stades	5-HTP- ^3H ($1\mu\text{Ci}$) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle I-S
35	5-7-1973 à 12h05	6-7-1973 à 3h05	15 h
35	5-7-1973 à 12h05	6-7-1973 à 3h05	15 h
36	5-7-1973 à 12h10	6-7-1973 à 3h10	15 h
36	5-7-1973 à 12h10	6-7-1973 à 3h10	15 h
37	7-7-1973 à 12h05	8-7-1973 à 3h05	15 h
37	7-7-1973 à 12h05	8-7-1973 à 3h05	15 h
38	7-7-1973 à 12h10	8-7-1973 à 3h10	15 h
38	7-7-1973 à 12h10	8-7-1973 à 3h10	15 h
39	11-7-1973 à 12h05	12-7-1973 à 3h05	15 h
39	11-7-1973 à 12h05	12-7-1973 à 3h05	15 h
40	11-7-1973 à 12h10	12-7-1973 à 3h10	15 h
40	11-7-1973 à 12h10	12-7-1973 à 3h10	15 h

TABEAU XXII

INJECTIONS DE NIALAMIDE DANS L'ALLANTOÏDE ET INJECTIONS DE 5-HTP-³H DANS LE 3^{ème} VENTRICULE

Stades	Nialamide (12μl) Injection (date et heure)	5-HTP- ³ H (1μCi) Injection (date et heure)	Sacrifice (date et heure)	Intervalle l-3
35	4-7-1973 à 18h00	5-7-1973 à 12h00	6-7-1973 à 3h00	15 h
35	4-7-1973 à 18h00	5-7-1973 à 12h00	6-7-1973 à 3h00	15 h
36	4-7-1973 à 18h10	5-7-1973 à 12h15	6-7-1973 à 3h15	15 h
36	4-7-1973 à 18h10	5-7-1973 à 12h15	6-7-1973 à 3h15	15 h
37	6-7-1973 à 18h00	7-7-1973 à 12h00	8-7-1973 à 3h00	15 h
37	6-7-1973 à 18h00	7-7-1973 à 12h00	8-7-1973 à 3h00	15 h
38	6-7-1973 à 18h10	7-7-1973 à 12h15	8-7-1973 à 3h15	15 h
38	6-7-1973 à 18h10	7-7-1973 à 12h15	8-7-1973 à 3h15	15 h
39	10-7-1973 à 18h00	11-7-1973 à 12h00	12-7-1973 à 3h00	15 h
39	10-7-1973 à 18h00	11-7-1973 à 12h00	12-7-1973 à 3h00	15 h
40	10-7-1973 à 18h10	11-7-1973 à 12h15	12-7-1973 à 3h15	15 h
40	10-7-1973 à 18h10	11-7-1973 à 12h15	12-7-1973 à 3h15	15 h

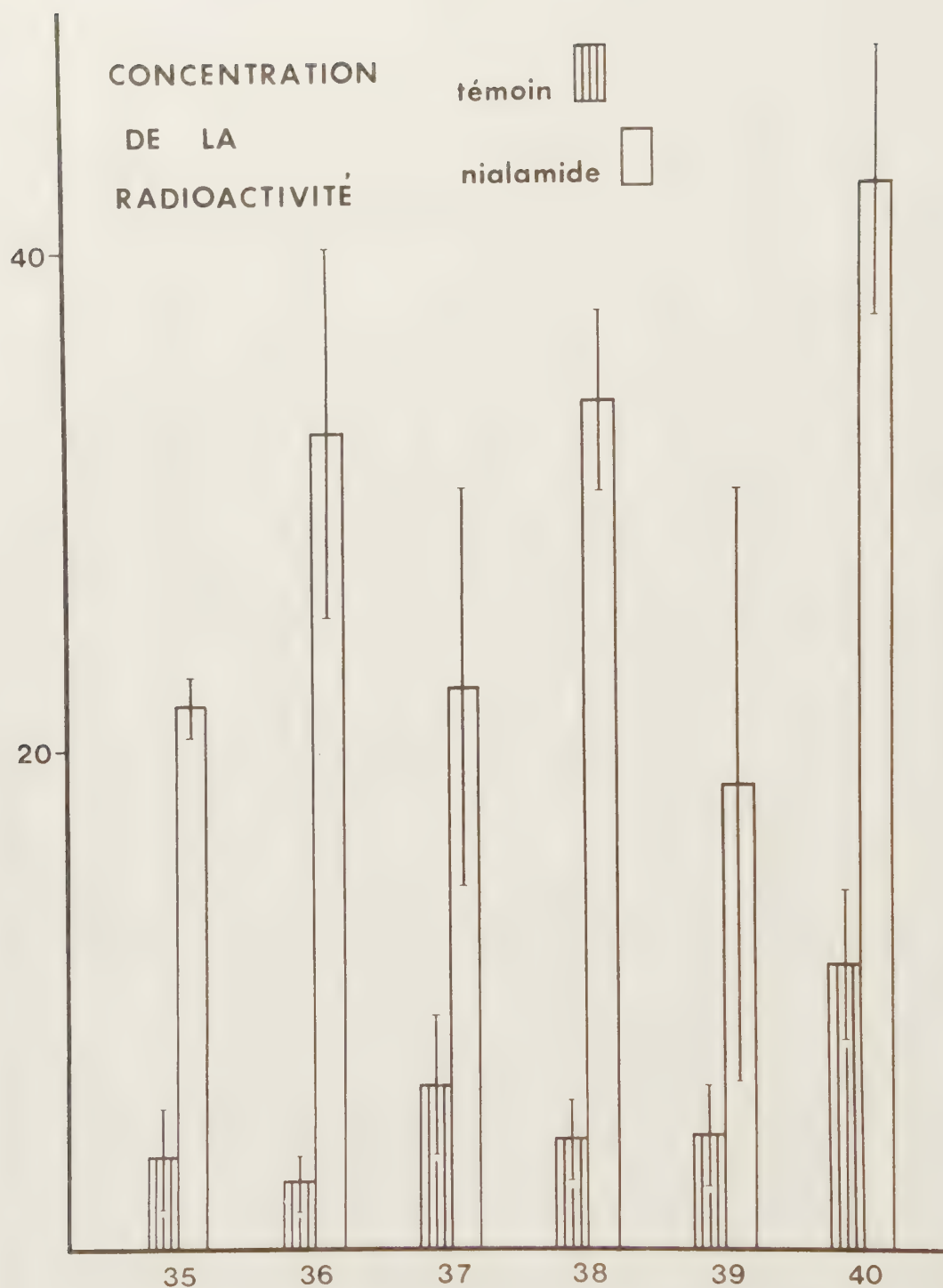


Fig. 14. Représentation de la moyenne des concentrations de radioactivité des indolamines pour l'épiphyse, dans les conditions normales (5-HTP- ^3H) et après inhibition de la monoamine oxydase (nialamide + 5-HTP- ^3H), au cours de l'ontogénèse (stades 35 à 40).

B - Action du nialamide au cours de l'ontogenèse

L'intervalle de temps injection-sacrifice que nous avons retenu pour ce type d'expérience est de 15 heures. Si l'on considère les résultats obtenus au stade 40 (paragraphe 1), 15 heures après l'injection du traceur, le taux de radioactivité est très faible chez les animaux de référence, alors que chez les individus traités par l'IMAO, le marquage est extrêmement intense. Pour obtenir le maximum de différence entre individus témoins et traités par le nialamide, au cours de l'ontogenèse, il était nécessaire de se placer dans des conditions optimales de comparaison, c'est-à-dire entre 12 heures et 24 heures après l'injection du traceur.

Les modalités expérimentales, retenues pour les animaux témoins (ayant subi une injection intraventriculaire de 5-HTP-³H), sont consignées dans le Tableau XXI, alors que celles appliquées aux animaux traités (nialamide + 5-HTP-³H injecté dans le 3ème ventricule) sont rapportées dans le Tableau XXII.

. *Analyse microphotométrique*

Quel que soit le stade embryonnaire considéré (35 à 40), le taux des indolamines radioactives (Fig. 14), après action d'IMAO, est très significativement augmenté (Tableau XXIII) dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire, comparativement à celui enregistré chez les animaux de référence.

. *Répartition des réactions radioautographiques*

L'épiphyse des embryons témoins montre, du stade 35 au stade 40, un marquage très faible. C'est uniquement au stade 40 que des réactions radioautographiques spécifiques ont pu être localisées à la base des CLS. L'absence ou la faible intensité du marquage spécifique est en rapport avec le temps choisi pour ce type d'expérience (15 heures : voir antérieurement).

Après injections intraventriculaires du 5-HTP-³H, les grains à répartition diffuse sont nombreux au niveau des cellules

TABLEAU XXIII

Stades	CONCENTRATION DE LA RADIOACTIVITE $m \pm \sigma$	
	5-HTP- ³ H	Nialamide + 5-HTP- ³ H
35	3,71 $\pm$ 2,01	21,76 $\pm$ 12,04
	XX	
36	2,68 $\pm$ 1,11	32,78 $\pm$ 7,41
	XX	
37	6,66 $\pm$ 2,74	22,60 $\pm$ 7,93
	XX	
38	4,34 $\pm$ 1,58	34,10 $\pm$ 3,63
	XX	
39	4,55 $\pm$ 2,04	18,63 $\pm$ 11,90
	XX	
40	11,35 $\pm$ 2,99	42,73 $\pm$ 5,32
	XX	

m = moyenne des mesures photométriques (2 animaux ;
30 mesures par animal)

σ = écart type à la moyenne

Signification statistique par analyse selon le test "t" de Student

XX = significatif avec un coefficient de sécurité $\geq 99\%$

interstitielles et des CLS. Quel que soit le stade considéré (35 à 40), ils justifient, en majeure partie, le taux de radio-activité (Fig. 14) décelé au niveau de l'épithélium épiphysaire.

Chez les individus traités par l'IMAO, les réactions radioautographiques spécifiques sont extrêmement intenses du stade 35 au stade 40. Elles affectent essentiellement les CLS, sur toute leur hauteur. Comme chez les individus témoins, un

marquage diffus, en rapport avec le mode d'injection intra-ventriculaire du traceur, apparaît très développé au niveau des cellules interstitielles.

En résumé : dans les conditions normales, les réactions radioautographiques spécifiques apparaissent au stade 36. Jusqu'au stade 40, elles s'étendent et s'intensifient progressivement de l'épiphyse distale vers l'épiphyse proximale, tout en se développant de la base vers les régions apicales de l'épithélium. Ces observations sont conformes aux données de la fluorescence U.V. et soulignent l'existence d'un gradient de différenciation disto-proximale des biosynthèses indoliques épiphysaires. Dans les structures contiguës à l'organe pinéal, l'intensité du marquage reste faible et constante et la répartition des grains diffuse. Il apparaît donc clairement, que le 5-HTP-³H est utilisé de façon spécifique au niveau de l'épithélium épiphysaire. Considérant la permanence des réactions radioautographiques au niveau des CLS, celles-ci sont impliquées, du stade 36 au stade 40, dans les biosynthèses indoliques.

Dans les conditions expérimentales (Ro₄-4602 + 5-HTP-³H et nialamide + 5-HTP-³H), les variations du taux des indolamines radioactives témoignent d'une différenciation précoce des enzymes impliquées dans le métabolisme de la 5-HT.

Comme nous en discuterons ultérieurement, l'absence de marquage spécifique, après traitement par le Ro₄-4602, permet de démontrer de façon indirecte l'existence d'une activité 5-HTPD dès le stade 36. Par contre, l'augmentation des indolamines radioactives, après traitement par le nialamide, témoigne d'un stockage accru de 5-HT et montre de façon indirecte la présence d'activités MAO au moins à partir du stade 35. La persistance des réactions radioautographiques au niveau des CLS est en faveur d'une activité MAO, dans ce type cellulaire.

Ayant à notre disposition une méthode histochimique pour la détection des activités MAO, nous avons tenu à préciser le stade de leur apparition et leur localisation au sein de l'épithélium épiphysaire.

3° - Le gradient de maturation des activités monoamine oxydasiques

Par la technique de GLENNER et al., (1957), avec la tryptamine comme substrat de l'enzyme, nous avons recherché l'évolution et la distribution des activités monoamine oxydasiques épiphysaires, au cours de l'ontogenèse. Les réactions histoenzymologiques sont comparées à celles des structures périphériques et de l'oeil pariétal.

Stade 34 : quelques grains de formazan, signalant une activité tryptamine-oxydasique, sont décelés dans l'épiphyse distale, à l'apex de l'épithélium épiphysaire (Pl. XXXVII, fig. 1). Dans l'épiphyse proximale, aucune activité n'est

histochimiquement décelable.

Stade 35 : dans l'épiphyse distale, on note une nette augmentation du nombre des grains de formazan (Pl. XXXVII, fig. 2) dans la région apicale de l'épithélium, en bordure de la lumière épiphysaire (Pl. XXXVII, fig. 3). Quelques granulations de formazan, ayant une distribution très éparse, sont également observées à différents niveaux de l'épithélium. Parfois, elles peuvent former quelques aggrégats à proximité de la lamelle basale (Pl. XXXVII, fig. 3). L'intensité des réactions histoenzymologiques, décelées à l'apex de l'épithélium, décroît au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'épiphyse proximale. Aucune activité tryptamine_oxydasique ne prend place dans l'épiphyse proximale.

Stade 36 : les dépôts de formazan sont plus importants qu'au stade précédent, à l'apex, mais également à la base de l'épithélium épiphysaire (Pl. XXXVII, fig. 4). Un gradient d'intensité décroissante des réactions histoenzymologiques est toujours observé depuis l'épiphyse distale jusqu'à l'épiphyse proximale.

Stades 37 et 38 : dans l'épiphyse distale et moyenne, une activité monoamine oxydasique très intense est signalée, dans la région apicale de l'épithélium, par la présence de grains de formazan nombreux ou par l'apparition de flaques de teinte violet pourpre très intense (Pl. XXXVII, fig. 5 et 6). A proximité de la lamelle basale, l'activité monoamine oxydasique reste toujours plus faible. Dans l'épiphyse proximale, des granulations denses de formazan s'observent à l'apex de l'épithélium épiphysaire. Leur densité est encore faible mais ces réactions histochimiques sont significatives.

Stade 39 : au niveau de l'épiphyse distale et moyenne, dans le tiers ou la moitié apicale de l'épithélium, les dépôts de formazan, se présentant sous forme de granulations denses, sont nombreux (Pl. XXXVIII, fig. 1 et 2) alors que, dans la moitié basale, ils sont rares ou absents. Par contre, cette région épithéliale est caractérisée par une teinte violet pourpre plus ou moins intense (Pl. XXXVIII, fig. 1 et 2).

Cette répartition des sites d'activité enzymatique est très proche de celle observée chez l'adulte (COLLIN et MEINIEL, 1973b). Dans l'épiphyse proximale, les sites sont intenses, en bordure de la lumière épiphysaire. Ils y déterminent un liseré apical très étroit.

Stade 40 : les réactions histochimiques sont comparables (Pl. XXXVIII, fig. 3 et 4) à celles notées au stade 39.

Dans les structures avoisinantes, une activité tryptamine oxydasique faible, signalée par la présence de grains de formazan très épars, est également décelée dans le télencéphale et le mésencéphale, dès le stade 34. Ces réactions s'intensifient au cours de l'ontogenèse et aux stades 39 et 40, l'activité MAO se montre très développée dans l'ensemble de ces éléments.

Au niveau du conjonctif péri-épiphysaire, du sac dorsal et de la paraphyse, les grains de formazan, aux différents stades, sont toujours moins nombreux qu'à l'apex de l'épithélium épiphysaire. Il en est de même pour l'oeil pariétal.

Inhibition des activités monoamine oxydasiques : chez les individus traités préalablement par le nialamide (1 injection intra-allantoïdienne de la drogue, à raison de 200 à 300 mg/kg, 15 heures avant le sacrifice), nous n'avons pu révéler les sites d'activité précédemment décrits. A tous les stades envisagés (34 à 40), le traitement par l'inhibiteur des MAO ne permet de visualiser ni les granulations denses, ni la teinte violet pourpre.

*En résumé : une activité monoamine oxydasique est donc histo-
chimiquement décelée dans l'épiphyse distale, dès le stade 34. Simulta-
nément, les réactions s'intensifient à l'apex de l'épithélium et s'étendent
progressivement vers la région proximale épiphysaire signalant l'existence
d'un gradient disto-proximal de maturation de l'enzyme. Sa localisation
sera discutée ultérieurement.*

4° - Détermination du type cellulaire de la lignée sensorielle impliqué dans le métabolisme indolique

En microscopie photonique, nous avons localisé les sites de rétention et d'utilisation des indolamines tritiées au niveau des CLS.

Considérant l'existence d'une pluralité des CLS, au niveau de l'épiphyse embryonnaire de Lacerta (Chapitre III), nous avons recherché si les deux types cellulaires (P et PRS), définis antérieurement, sont impliqués dans le métabolisme indolique. Il était par ailleurs nécessaire de préciser les rapports pouvant exister entre l'état de différenciation cyto- logique des CLS et leur aptitude à stocker des indolamines. Par des méthodes radioautographiques infrastructurales, nous avons donc déterminé les sites cellulaires de rétention des indolamines radioactives. Pour cette étude, nous avons utilisé le matériel préparé pour les recherches en microscopie photonique (voir Tableau XVI pour les modalités expérimentales).

Nos observations ont été réalisées, à tous les stades (35 à 40), dans la région épiphysaire qui présente le maximum de différenciation, c'est-à-dire l'épiphyse distale.

Comme le laissaient prévoir les résultats obtenus en microscopie photonique, aucune réaction spécifique ne s'observe au niveau des cellules interstitielles (voir Pl. XL, fig. 1 ; Pl. XLII, fig. 1) et des neurones sensoriels. Par ailleurs, nous n'avons aucune preuve d'une rétention d'indolamines radioactives au niveau des cellules P. Ainsi, nous exposerons essentiellement les observations relatives au PRS.

Stade 35 : les grains d'argent, extrêmement rares, sont dispersés dans l'ensemble de l'épithélium et localisés indifféremment au niveau des divers organites cytoplasmiques des CLS, des cellules interstitielles de type épendymaire et des neurones sensoriels. La répartition de ces grains n'est pas significative de réactions spécifiques.

Stade 36 : des concentrations relativement rares de grains d'argent apparaissent dans la région proximale des pédicules basaux de certains PRS (Pl. XXXIX, fig. 1), au niveau des zones de stockage des grains denses de sécrétion d'origine golgienne (Pl. XXXIX, fig. 2). Ces réactions radioautographiques spécifiques sont donc significatives d'une rétention des indolamines exogènes dans ces mêmes régions.

Dans les autres compartiments cellulaires des PRS (segment externe, ellipsoïde, isthme, myoïde et corps cellulaire), les grains d'argent sont très rares ou absents.

Stade 37 : des images de concentrations de grains d'argent, dans les pédicules basaux des PRS (Pl. XL, fig. 1), s'observent plus fréquemment qu'au stade précédent. Les grains d'argent sont les plus souvent associés aux populations de grains de sécrétion (Pl. XL, fig. 2), stockés en plus grand nombre dans la région distale des pédicules basaux.

Au niveau du segment interne et du corps cellulaire des PRS, les grains d'argent sont toujours très rares, voire même absents.

Stade 38 : l'augmentation du nombre des grains d'argent, au niveau des pédicules basaux des PRS (Pl. XLI, fig. 1), s'effectue corrélativement à une augmentation du nombre des grains denses (Pl. XLI, fig. 2).

Dans le cytoplasme périnucléaire, des grains d'argent se superposent fréquemment à des grains de sécrétion isolés.

Au niveau du segment interne de quelques PRS, apparaît un marquage, souvent associé à des grains denses épars. Les autres organites cellulaires (ergastoplasme, polysomes, appareil de Golgi et mitochondries) ne sont pas concernés.

Stade 39 : la localisation des grains d'argent est comparable à celle observée au stade précédent. Parallèlement à l'augmentation du nombre des grains denses (Pl. XLII, fig. 1 et 2), les réactions radioautographiques s'intensifient, essentiellement au niveau des pédicules basaux (Pl. XLII, fig. 1 et 2), mais également dans le cytoplasme périnucléaire et le segment interne des PRS.

Au niveau des mitochondries de l'ellipsoïde ou des formations ergastoplasmiques, ribosomales et golgiennes du myoïde, le marquage toujours très faible n'apparaît pas significatif.

Un marquage diffus, parfois intense, affecte le noyau de certains PRS (Pl. XLII, fig. 1).

Stade 40 : c'est en fin d'embryogenèse que les réactions radioautographiques sont les plus intenses. Au niveau du segment interne des PRS, en particulier dans leur région distale -faisant saillie dans la lumière épiphysaire- les grains d'argent peu nombreux sont souvent associés à des mitochondries de l'ellipsoïde (Pl. XLIII, fig. 1) ou à des grains denses épars. Au niveau des formations ergastoplasmiques, polysomales et golgiennes du myoïde, le marquage est toujours très faible (Pl. XLIII, fig. 2). Dans cette même région, des réactions radioautographiques spécifiques se superposent à des groupes de grains de sécrétion (Pl. XLIII, fig. 2).

C'est cependant dans le cytoplasme périnucléaire (Pl. XLIV) et le pédicule basal (Pl. XLV, fig. 1 et 2) que les grains d'argent sont les plus nombreux (dans les zones de stockage des grains de sécrétion). Bien que le marquage soit le plus souvent directement associés aux sécrétions (Pl. XLV, fig. 2), certains grains d'argent sont observés dans les espaces cytoplasmiques adjacents.

Un marquage diffus, parfois important, affecte le noyau des PRS.

3 jours après la naissance : la densité des grains d'argent augmente fortement au niveau des concentrations accrues de grains de sécrétion du segment interne, du cytoplasme périnucléaire et du pédicule basal des PRS.

5° - Les rapports protéines-indolamines dans les PRS

Notre étude radioautographique ultrastructurale a montré l'association fréquente du marquage radioactif aux grains denses de sécrétion. Nous avons alors cherché à visualiser les relations quantitatives pouvant exister entre les phénomènes sécrétoire et neurohumoral des PRS embryonnaires.

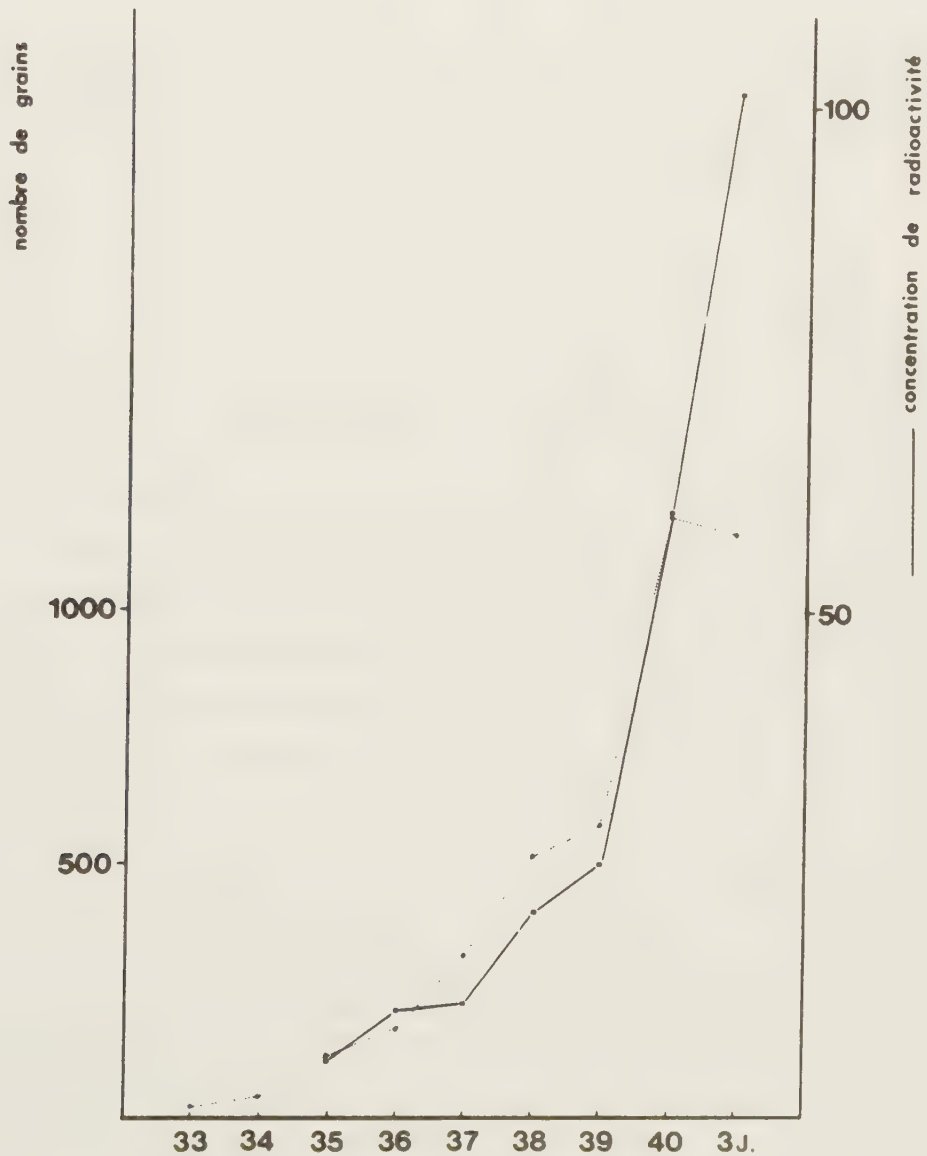


Fig. 15. Représentation simultanée de la moyenne des concentrations de radioactivité épithéliale — et de la moyenne des concentrations de grains denses dans les pédicules basaux des PRS , au cours de l'ontogenèse et 3 jours après la naissance.

Sur la figure 15, sont reportés les résultats numériques obtenus à partir des concentrations de radioactivité épithéliale au cours de l'ontogenèse (Fig. 12) et des concentrations de grains denses dans les pédicules basaux (Chapitre III, fig. 7). Ces deux courbes apparaissent concordantes au cours de l'ontogenèse. Par contre, 3 jours après la naissance, le taux des indolamines radioactives continue à progresser alors que le nombre des grains denses dans les pédicules basaux reste stationnaire. Ce phénomène est discuté ultérieurement.

En résumé : les PRS sont les seules cellules concernées par les biosynthèses indoliques. Par ailleurs, il existe au cours de l'ontogenèse (stades 36 à 40) des relations qualitative et quantitative très étroites entre les concentrations de grains denses et le "pool" indolique des PRS.

6° - Discussion

α - Indolamines et PRS épiphysaires

Les réactions radioautographiques spécifiques, significatives d'une rétention d'indolamines, apparaissent dans l'épiphyse distale, à partir du stade 36. Ces résultats sont tout à fait conformes à ceux obtenus précédemment par la technique d'histofluorescence de FALCK et HILLARP (Chapitre IV ; paragraphe 1), le marquage et les fluorophores jaunes caractéristiques de la présence de 5-HT (et de 5-HTP) ont été décelés au stade 36 dans les mêmes régions épiphysaires. Le précurseur exogène (5-HTP-³H) permet cependant de préciser (voir résultats) le type et les compartiments cellulaires concernés par un stockage de dérivés indoliques. On peut donc garantir, grâce à la confrontation des résultats fournis par les deux méthodes, l'apparition de 5-HT, c'est-à-dire d'un "pool" indolique à partir du stade 36, dans les CLS (ou du moins certaines CLS) appartenant à l'épiphyse distale.

Les résultats présentés chez l'embryon de Lacerta vivipara sont différents de ceux obtenus par plusieurs équipes, chez le Rat. En effet, la sérotonine (en très faible concentration) n'apparaît qu'au 3ème jour après la naissance

(QUAY et HALEVY, 1962 ; ZWEIG et al., 1966 ; SNYDER, 1968 ; MACHADO, WRAGG et MACHADO, 1968 ; ILLNEROVA, 1971 ; AXELROD, 1971).

L'intensité croissante des réactions radioautographiques spécifiques et celle des fluorophores, depuis le stade 36 jusqu'au stade 40 et après la naissance, traduit, sans aucun doute, une augmentation importante des indolamines en cours de métabolisme et stockées (cas de la 5-HT). Une telle augmentation est précisée par l'étude microphotométrique.

L'ensemble des travaux que nous avons effectués jusqu'ici sur le complexe pariétal, grâce à deux techniques cytochimiques complémentaires, permet de considérer que le 3ème oeil embryonnaire, à l'inverse de l'épiphyse, n'est pas impliqué dans le métabolisme indolique.

Nos études radioautographiques en microscopie photomique, ont permis de détecter, du stade 36 au stade 40, un marquage spécifique au niveau de certaines CLS. L'étude radioautographique à haute résolution établit que la rétention du 5-HTP-³H et de ses dérivés s'effectue uniquement au niveau des PRS. Nous n'avons, jusqu'ici, aucune preuve d'une incorporation du précurseur au niveau des photorécepteurs typiques.

Le marquage radioactif est le plus fréquemment associé aux colonies de grains denses stockées dans les pédicules basaux (voir paragraphe β de cette discussion : rapports indolamines-protéines).

Au niveau des mitochondries, le faible marquage pourrait éventuellement correspondre à des métabolites (notamment 5-HIAA et éventuellement des tryptophols), dans la mesure où les mitochondries de l'ellipsoïde renfermeraient, entre autres des enzymes impliquées dans le catabolisme de la 5-HT telle que la monoamine oxydase (KELLEY et QUAY, 1970 ; COLLIN et MEINIEL, 1973b, paragraphe β).

Sur les formations ergastoplasmiques, ribosomales et golgiennes, nous n'avons jamais observé de concentrations de grains d'argent. En effet, les sites de biosynthèse des

indolamines différent, de ceux du matériel protéique (COLLIN et MEINIEL, 1973a chez l'adulte).

3 - A propos des enzymes impliquées dans le métabolisme de la 5-HT, au cours de la vie embryonnaire

L'inhibition de l'activité 5-HTPD par le Ro₄-4602 entraîne aux stades 37 à 40 une chute très significative du taux des indolamines radioactives. Par ailleurs, aucun marquage spécifique n'est observé ; les grains d'argent ont une répartition égale dans les CLS, les cellules interstitielles de type épendymaire et dans les neurones sensoriels. Au contraire, chez les individus témoins, des réactions radioautographiques spécifiques affectent les CLS.

Sur la base des données et des discussions antérieures (paragraphe 1), ces résultats sont significatifs de la présence d'une activité 5-hydroxytryptophane décarboxylasique dans l'épiphyse embryonnaire, à partir du stade 37. Au stade 36, l'absence de résultats quantitatifs significatifs ne permet cependant pas d'exclure la présence d'une activité 5-HTPD. En effet, nos observations en microscopie photonique révèlent, chez l'embryon témoin, la présence de réactions radioautographiques spécifiques à la base des CLS de l'épiphyse distale. Or, après inhibition des activités 5-HTPD par le Ro₄-4602, celles-ci disparaissent. Un marquage diffus, plus intense que chez les embryons témoins, affecte alors toutes les cellules épiphysaires et contribue à l'édification d'un taux relativement élevé de radioactivité. Ce phénomène et les faibles teneurs en indolamines dans les conditions normales expliquent vraisemblablement l'absence de résultat quantitatif significatif.

Pour les mêmes raisons que celles évoquées dans la discussion du paragraphe II - B (à propos des résultats obtenus au stade 40) une localisation de la 5-HTPD dans les PRS paraît pouvoir être retenue, du stade 36 au stade 40.

Chez le Poulet, l'activité 5-hydroxytryptophane décarboxylasique est détectée dans la pinéale et les hémisphères cérébraux dès le 12^e jour de l'incubation (WAINWRIGHT, 1974).

Le rendement de l'enzyme s'élève rapidement jusqu'à l'éclosion. Cependant, dans les conditions naturelles, aucun stockage d'indolamines n'a pu être visualisé au cours de l'ontogenèse (MEINIEL inédit).

Par contre, chez le Rat, l'activité 5-hydroxytryptophane décarboxylasique et la 5-HT épithéliale se développent parallèlement. SNYDER (1968), HERNANDEZ et ILLNEROVA (1970) font état d'une activité 5-HTPD au 3ème jour qui suit la naissance, à partir du moment où est décelée la 5-HT (voir références antérieures).

L'inhibition de l'activité monoamine oxydasique par le nialamide entraîne, des stades 35 à 40, une augmentation très significative du taux de radioactivité traduisant un stockage accru de 5-HT (voir discussion du paragraphe II - B : stade 40). L'augmentation de 5-HT (synthétisée à partir de 5-HTP exogène), au stade 35, après inhibition des MAO, permet de penser que la MAO est déjà présente dans l'épiphyse sans que pour autant elle dispose, dans les conditions naturelles, de substrat (5-HT). L'apparition de 5-HT (à partir de 5-HTP exogène) implique du même coup la mise en place de l'activité 5-HTPD à ce stade.

Les recherches histoenzymologiques précisent que des activités MAO sont présentes dans l'épiphyse de Lacerta dès le stade 34. En conséquence, la monoamine oxydase est déjà synthétisée à ce stade. Il est vraisemblable qu'une injection "d'IMAO + 5-HTP-³H" (voir ci-dessus) à de jeunes embryons (stades 33 et 34) nous aurait permis d'arriver aux conclusions obtenues à partir de l'étude histoenzymologique.

Cependant par la technique de GLENNER et al., (1957), nous précisons que l'activité enzymatique se situe essentiellement dans le tiers apical de l'épithélium. Sur des préparations de 16 µm d'épaisseur il demeure difficile d'apprécier si celle-ci caractérise les CLS ou/et les cellules de type épendymaire dans leur région apicale.

Plusieurs faits permettent néanmoins de suggérer que l'activité MAO siège, au moins pour l'essentiel, au niveau des PRS.

Le segment interne des PRS, occupant une position apicale, présente dès le stade 32, une très forte concentration de mitochondries (ellipsoïde) qui n'a rien de comparable à celle des cellules "interstitielles" de type épendymaire. Contre le noyau, le myoïde est particulièrement riche en structures réticulaires à grains de Palade et en polysomes. Or il existe une étroite corrélation entre la localisation mitochondriale et microsomale de l'activité monoamine oxydase (KELLEY et QUAY, 1970 chez Anolis carolinensis), les données ultrastructurales et la localisation des dépôts de formazan.

Par ailleurs, après inhibition de la monoamine oxydase par le nialamide, l'augmentation de la concentration de radioactivité (quel que soit le stade embryonnaire considéré 35 à 40) a lieu dans les sites naturels de stockage de la 5-HT. Dans le cas où l'activité MAO serait localisée dans les cellules "interstitielles" on doit s'attendre théoriquement à une migration massive de la 5-HT dans ce type cellulaire.

Etant donné les inconnues qui subsistent chez l'adulte, il nous paraît prématuré d'envisager l'état de différenciation de la voie de biosynthèse de la mélatonine. Signalons cependant que chez le Rat, la N-acétyl transférase (= NAT ; ILLNEROVA, 1975) et l'hydroxyindol-0-méthyl transférase (= HIOMT ; ILLNEROVA 1972), impliquées dans la biosynthèse de la mélatonine, se mettent en place antérieurement ou au stade où est visualisé un stockage de 5-HT (MACHADO, WRAGG et MACHADO, 1968). Chez le Poulet (WAINWRIGHT, 1973), des traces d'HIOMT sont détectées chez l'embryon de 10 jours.

γ - Rapports indolamines-protéines dans les PRS

Les sites des indolamines radioactives se superposent, au cours de l'ontogenèse, aux zones de stockage des grains denses, détectés dans les pédicules basaux des PRS. En effet, il existe, le plus fréquemment, une étroite association morphologique entre les grains d'argent et les grains denses. D'autre part, du stade 36 au stade 40 de l'embryogenèse, l'intensité du

marquage dans les pédicules basaux des PRS, croît parallèlement à l'augmentation du nombre des grains denses.

La concordance des deux courbes, au cours de l'ontogenèse, montre bien que le taux d'indolamines est en étroite relation avec la quantité de grains de sécrétion des pédicules basaux et dépend en conséquence du degré de différenciation cytologique des PRS (MEINIEL, 1976b).

Après la naissance, le taux des indolamines tritiées continue à progresser alors que le nombre des grains denses dans les pédicules basaux reste stationnaire. Cependant, aux stades post-embryonnaires nous avons vu que les zones de stockage des grains denses n'appartenaient pas exclusivement aux pédicules basaux mais également au corps cellulaire et à la région supranucléaire.

Nos résultats qualitatifs et quantitatifs sont en faveur de la liaison d'une partie importante du "pool" indolique à la fraction protéique et/ou glycoprotéique des grains denses (COLLIN et MEINIEL, 1972, chez l'adulte). C'est seulement chez les Lacertiliens adultes (COLLIN, 1967c, 1968c, 1969a, 1971 ; COLLIN et MEINIEL, 1972, 1973a ; MEINIEL, COLLIN et CALAS, 1972 ; JUILLARD et COLLIN, 1976) et récemment chez un Oiseau (COLLIN, JUILLARD et BRISSON, 1975 ; COLLIN, CALAS et JUILLARD, 1975, 1976 ; JUILLARD et COLLIN, 1976) que le stockage de la 5-HT, au niveau des grains de sécrétion et que la liaison possible de l'indolamine à la matrice protéique et/ou glycoprotéique ont été proposés.

δ - Le gradient disto-proximal de maturation des biosynthèses

La fluorescence induite aux différents stades embryonnaires (36 à 40) apparaît toujours plus intense et plus étendue, au niveau de l'épiphyse distale qu'aux niveaux de l'épiphyse moyenne et proximale.

Après incorporation de 5-HTP-³H, et quel que soit le stade embryonnaire (36 à 40), les PRS de l'épiphyse distale incorporent toujours plus fortement le précurseur que celles

de l'épiphyse moyenne ou proximale.

Enfin, les activités monoamine oxydasiques sont, à tous les stades embryonnaires (34 à 40), plus intenses dans l'épiphyse distale que dans l'épiphyse moyenne et proximale.

L'ensemble de ces résultats montre qu'il existe un gradient de maturation du métabolisme indolique, de l'épiphyse distale à l'épiphyse proximale.

Nos études radioautographiques infrastructurales ont révélé que la capacité d'utiliser le 5-HTP-³H, pour un PRS embryonnaire de Lacerta, peut être mise en parallèle avec sa faculté de synthétiser et de stocker des grains de sécrétion d'origine golgienne. Nos études cytologiques (Chapitre III) ont par ailleurs mis en évidence que les PRS possédant le maximum de grains denses, à un stade embryonnaire donné, se situent dans l'épiphyse distale. Le nombre des grains de sécrétion, stockés dans les pédicules basaux des PRS, diminue au fur et à mesure que l'on se rapproche de la région proximale épiphysaire. La confrontation de ces résultats permet donc de préciser que la capacité de stocker la 5-HT (MEINIEL, COLLIN et HARTWIG, 1973) de métaboliser le 5-HTP-³H (MEINIEL, COLLIN et ROUX, 1975) ou de posséder des activités enzymatiques (exemple MAO) pour un PRS embryonnaire est en rapport avec son stade de différenciation cytologique.

En résumé : la technique radioautographique permet :

- 1 - d'obtenir des résultats conformes à ceux acquis par la méthode de FALCK et HILLARP. Le 5-HTP-³H est utilisé de façon spécifique par l'épiphyse.*
- 2 - de quantifier le taux des indolamines au cours de l'embryogenèse. Ce taux croissant du stade 36 au stade 40 affecte certaines CLS.*
- 3 - de préciser par des méthodes radioautographiques infrastructurales que les PRS sont les seules cellules de la lignée sensorielle impliquées dans le métabolisme indolique. Des relations qualitatives et quantitatives existent entre les concentrations des grains de sécrétion et le "pool" indolique des PRS. Une association des indolamines aux protéines ou glycoprotéines granulaires est vraisemblable.*
- 4 - de préciser les stades de mise en place des activités 5-HTPD (stade 35) et MAO (stade 34).*
- 5 - de définir un gradient disto-proximal de différenciation du métabolisme indolique.*

Enfin, comme c'est le cas pour les photorécepteurs de l'oeil pariétal, il est important de remarquer que les cellules différenciées en photorécepteurs typiques ne semblent pas engagées dans le métabolisme indolique.

CHAPITRE V

DIFFERENCIATION DE L'INNERVATION NORADRENERGIQUE PINEALOPETE

Dans l'épiphyse des Amniotes, un système de fibres catécholaminergiques aboutit à l'épiphyse : KAPPERS, 1960, 1965 chez les Mammifères ; FUJIE, 1968 ; COLLIN, 1968a, 1969a et c ; UECK, 1970, 1973 chez les Oiseaux ; COLLIN, 1967c, 1969a ; COLLIN et KAPPERS, 1968 ; OKSCHE et KIRSCHSTEIN, 1968 ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1968, 1969a ; PETIT, 1969 ; COLLIN et MEINIEL, 1971 chez les Reptiles. Ces fibres noradrénergiques orthosympathiques proviennent chez les Mammifères (KAPPERS, 1960) et chez les Oiseaux (HEDLUND et NALBANDOV, 1969) des ganglions cervicaux supérieurs. La noradrénaline, chez les Mammifères, intervient dans la régulation des biosynthèses indoliques (Réf : in AXELROD, 1974 ; COLLIN, 1976).

Ainsi, après la mise en évidence d'une biosynthèse indolique, chez l'embryon de Lacerta, il était intéressant de considérer la mise en place de cette innervation, au cours de l'ontogenèse, et de préciser ses relations éventuelles avec les biosynthèses indoliques.

Cette étude est réalisée par confrontation des données acquises par des méthodes histochimiques (technique de FALCK et HILLARP), microspectrofluorimétrique, ultrastructurale et radioautographique (après "uptake" de la noradrénaline et de la dopamine tritiées).

I - MISE EN EVIDENCE ET CARACTERISATION DES
CATECHOLAMINES DES FIBRES NERVEUSES PINEALOPETES

A - Détection par la technique de FALCK et HILLARP
des catécholamines

1° - Chez l'adulte et l'immature de Lacerta vivipara

Chez l'adulte et l'immature de Lacerta vivipara, comme chez l'adulte de Lacerta viridis et muralis (QUAY, JONGKIND et KAPPERS, 1967 ; KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1968c, 1969a ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969b), une fluorescence verte, intense, localisée dans des fibres périphériques à l'organe, correspond à une catécholamine (Pl. XXIV, fig. 1, 2, 5 et 6). Ces terminaisons axoniques pénètrent dans les espaces péricapillaires, longent l'épithélium épiphysaire et se ramifient à sa proximité. Il n'est pas possible, dans les conditions normales, étant donné l'intense fluorescence jaune épithéliale, de les distinguer à l'intérieur de l'épithélium épiphysaire. Par contre, nous avons pu les détecter dans la lumière épiphysaire (voir également, WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1969a ; COLLIN, 1969a chez Lacerta viridis et muralis).

2° - Chez l'embryon et le nouveau-né de Lacerta
vivipara

Stades 35, 36, 37 et 38 : à la suite de l'exposition aux vapeurs de paraformaldéhyde aucune fluorescence verte n'indique la présence de catécholamines (Pl. XXV, fig. 1 à 6).

Stade 39 : à ce stade, apparaît, dans les espaces péricapillaires -dans une région relativement éloignée de la lamelle basale- une fluorescence verte très faible mais significative de la présence de catécholamines dans les fibres nerveuses qui se mettent vraisemblablement en place.

Stade 40 : la fluorescence verte des fibres nerveuses pinéalopètes catécholaminergiques (périphériques à l'organe

pinéal) est encore faible (Pl. XXVI, fig. 2) : les images que nous avons observées sont assez voisines de celles obtenues au stade 39.

Naissance et 30 heures après la naissance : dans les espaces péricapillaires, une fluorescence verte intense traduit une augmentation importante du taux des catécholamines (Pl. XXVI, fig. 5). Par ailleurs, les fibres nerveuses pinéalopêtes se rapprochent de la lamelle basale, mais leur pénétration intra-épithéliale ne peut être assurée.

3° - Chez l'embryon et le nouveau-né de Lacerta viridis

La situation est ici très proche de celle rencontrée chez Lacerta vivipara.

Les axones catécholaminergiques sont décelés en petit nombre, à la périphérie de l'épiphyse, à partir du stade 39. Au stade 40, leur fluorescence verte reste toujours très faible.

Deux jours après l'éclosion, une fluorescence verte intense, dans les espaces péricapillaires, est significative d'une augmentation importante du taux des catécholamines dans ces fibres nerveuses pinéalopêtes.

4° - Chez l'embryon et le nouveau-né de Lacerta muralis

Les catécholamines ne sont pas mises en évidence au stade 37-38. Par contre, dès le stade 40 et 5 jours après la naissance, l'épiphyse de cette espèce se singularise par un important réseau de fines fibres qui circonscrivent l'organe (Pl. XXVII, fig. 3).

En résumé : chez Lacerta vivipara et Lacerta viridis, c'est seulement aux stades 39 et 40 qu'apparaît une faible fluorescence verte à la périphérie de l'organe. Chez ces deux espèces, l'apparition de catécholamines dans les fibres nerveuses pinéalopêtes est très nettement postérieure à la mise en place des biosynthèses indoliques.

Chez Lacerta muralis, ce type d'innervation est très nettement plus développé au stade 40 que chez les deux espèces précédentes.

B - Variations expérimentales du taux des catécholamines (chez *Lacerta vivipara*)

Pour tester la spécificité de nos réactions histo-chimiques, nous avons injecté des drogues connues pour leur action sur les catécholamines et en particulier la réserpine qui déplete les catécholamines de leurs sites de stockage.

1° - Action de la réserpine

a) Chez l'adulte et l'immaturation

Quels que soient la dose injectée et le temps d'action de la drogue (voir Matériel et Méthodes), nous n'observons aucune modification de l'intensité de la fluorescence verte des fibres périphériques à l'organe pinéal ou situées dans sa lumière (Pl. XXIV, fig. 3 et 4). Des fibres intra-épithéliales, peu nombreuses, apparaissent après déplétion du "pool" indolique (Pl. XXIV, fig. 4).

b) Chez l'embryon

La réserpine n'affecte pas, en apparence, les catécholamines des fibres pinéalopètes. Que ce soit au stade 39 ou 40, nous n'avons pas observé de fibres intra-épithéliales (Pl. XXVII, fig. 4).

2° - Action du nialamide chez l'embryon

L'injection de l'IMAO, dans les conditions précisées antérieurement (Chapitre IV), ne modifie nullement l'aspect des fibres catécholaminergiques aux stades 39 et 40.

3° - Autofluorescence

Les épiphyses, non traitées par les vapeurs de para-formaldéhyde ne permettent pas de révéler les sites de fluorescence précédemment décrits, chez l'adulte, l'immaturation et le

nouveau-né, ainsi qu'aux différents stades embryonnaires envisagés. Parfois, le conjonctif péri-épiphysaire fournit une fluorescence verdâtre qui ne peut cependant être confondue avec celle des fibres catécholaminergiques.

Les tests de spécificité s'étant avérés négatifs, nous avons voulu confirmer la nature catécholaminergique de ces terminaisons par des méthodes radioautographiques. Cette étude fut envisagée avant que nous soyions en mesure de réaliser des recherches microspectrofluorimétriques.

C - Incorporation de noradrénaline et de dopamine tritiées au niveau des fibres pinéaloépithéliales
(chez Lacerta vivipara)

Les fibres catécholaminergiques présentent la particularité de pouvoir capter (propriétés "d'uptake" et de "reuptake") le neurotransmetteur qu'elles libèrent au niveau de leurs terminaisons. Elles peuvent également capter les monoamines exogènes qu'elles utilisent normalement comme médiateur de même que leur précurseur, propriété qui a été à la base d'études cytophysiologiques remarquables (WOLFE et al., 1962 ; TAXI et DROZ, 1966b au niveau de l'épiphyse des Mammifères ; CALAS, 1974 au niveau de l'éminence médiane des Oiseaux). Ainsi, après injection de noradrénaline ou de dopamine tritiées, il est possible, grâce à la mise en oeuvre de méthodes radioautographiques, de rechercher des fibres de nature catécholaminergique.

1° - Résultats obtenus chez l'immature

Depuis la 15ème minute jusqu'à la 4ème heure qui suit l'injection de noradrénaline ou de dopamine tritiées (40 μ Ci/g en une injection intrapéritonéale) un marquage très intense s'observe à la périphérie de la vésicule épiphysaire. Les terminaisons catécholaminergiques constituent un liseré basal pratiquement ininterrompu (Pl. XLVI, fig. 1). Après coloration au bleu de toluidine, les nombreuses varicosités paraissent

s'appliquer contre la lamelle basale (Pl. XLVI, fig. 2).

2° - Résultats obtenus chez l'embryon

Chez l'embryon aux stades 37, 38 et 39, depuis la 15ème minute jusqu'à la 4ème heure qui suit l'injection de noradrénaline-³H ou de dopamine-³H (40 µCi/gr en une injection intrapéritonéale), nous n'avons pas observé de fibres sympathiques, et ceci, même dans des régions éloignées de la lamelle basale épiphysaire.

Au stade 40, les grains d'argent fournissent, dans de rares cas, des réactions radioautographiques significatives d'un "uptake" sélectif (Pl. XLVI, fig. 3). Après coloration au bleu de toluidine, les fibres (ou les faisceaux de fibres) catécholaminergiques s'avèrent être localisées dans des territoires relativement éloignés de la lamelle basale limitant l'épiphyse (Pl. XLVI, fig. 4). Assez souvent, ils sont associés à la vascularisation péri-épiphysaire. "L'uptake" sélectif de dopamine et de noradrénaline confirme la présence de fibres catécholaminergiques péri-épiphysaires, dès le stade 40, mais ne permet pas de préciser leur nature exacte. C'est pourquoi, nous avons envisagé une étude microspectrofluorimétrique.

D - Identification des catécholamines des fibres nerveuses pinéaloépithéliales (chez Lacerta vivipara)

Pour l'analyse microspectrofluorimétrique des fluorophores franchement verts, nous avons choisi d'effectuer les mesures sur des individus adultes réserpines.

Les catécholamines de ces fibres ayant la propriété, d'être réserpino-résistantes (COLLIN, 1968c), on élimine ainsi les fluorophores jaunes de l'épithélium, sources d'erreurs, lorsque les fibres catécholaminergiques sont intra-épithéliales ou localisées à proximité de la lamelle basale.

Pour les fluorophores verts, les maxima d'émission et d'excitation se situent respectivement à des longueurs d'onde de 475 et 420 mµ (Fig. 16). Ces deux spectres, obtenus sur un

matériel exposé aux vapeurs de formaldéhyde pendant une ou 2 heures, caractérisent une catécholamine primaire, soit la noradrénaline, soit la dopamine (BJÖRKLUND, FALCK et OWMAN, 1971).

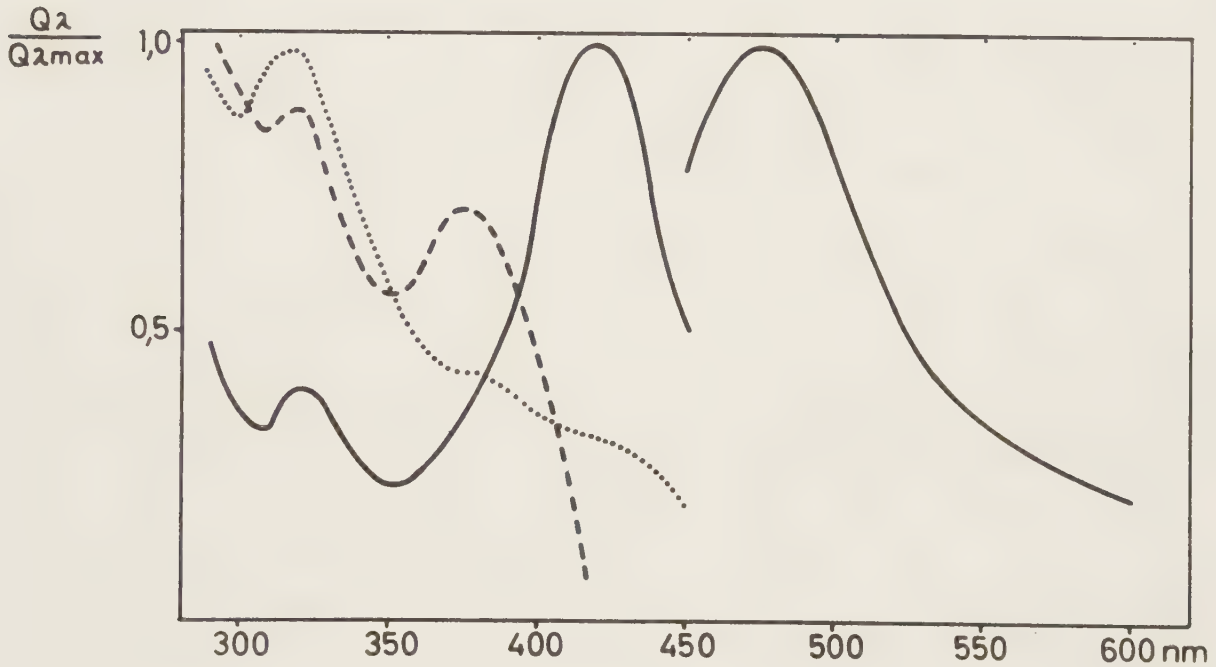


Fig. 16. Etude des fibres pinéaloépètes catécholaminergiques situées à la périphérie de l'organe pinéal (adulte, traité à la réserpine).

à droite ; spectre d'émission
à gauche ; spectres d'excitation

- fibres traitées au paraformaldéhyde seul
- fibres traitées au paraformaldéhyde puis aux vapeurs d'HCl, pendant 30 secondes
- fibres traitées au paraformaldéhyde puis aux vapeurs d'HCl, pendant 4 minutes

Le pic d'excitation à 370 mμ disparaît après un traitement prolongé aux vapeurs d'HCl ce qui est caractéristique de la noradrénaline.

Pour différencier les catécholamines primaires, on utilise le procédé microspectrofluorimétrique (BJÖRKLUND, EHINGER et FALCK, 1968) basé sur l'observation suivante de CORRODI et JONSSON (1965) : le fluorophore de la noradrénaline (dans sa forme non quinoïdale tautomère), contrairement à celui de la dopamine, perd un radical hydroxyle, à la suite d'un traitement à l'HCl. A pH neutre, les fluorophores de la noradrénaline et de la dopamine sont respectivement la 4,6,7-trihydroxy-3,4-dihydroisoquinoléine (Fig. 17 : VI) et la 6,7-dihydroxy-3,4-dihydroisoquinoléine (Fig. 17 : III), dans leur forme quinoïdale tautomère ; toutes les deux ont des pics d'émission et d'excitation à 475 et 410 mμ. Après un traitement

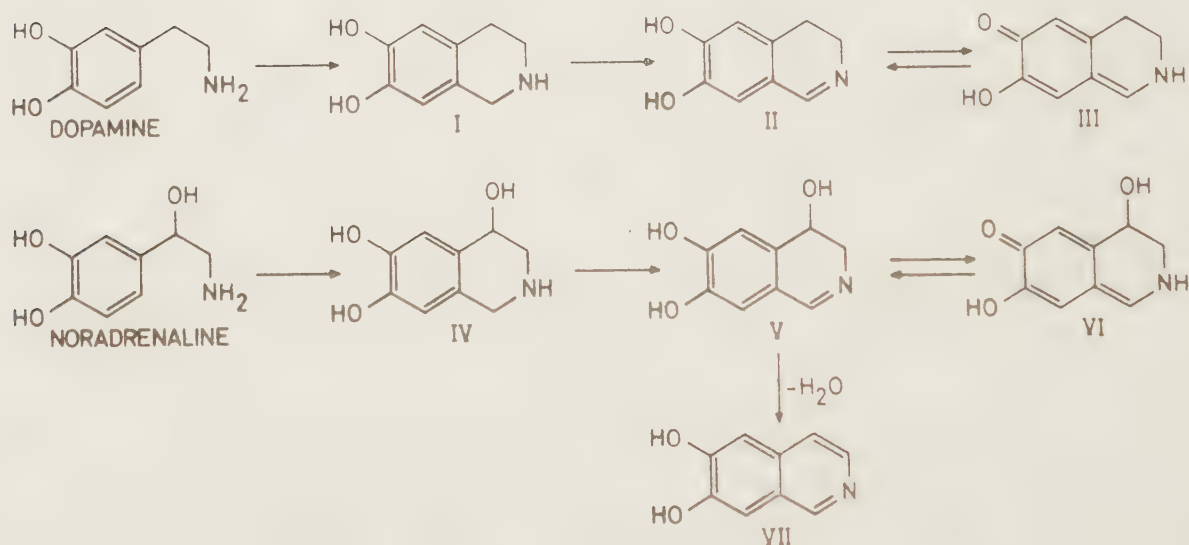


Fig. 17. Formation des fluorophores (voir texte pour l'explication) d'après Björklund, Falck et Owman, 1972.

à l'HCl, le fluorophore de la dopamine est converti dans sa forme non quinoïdale tautomère (Fig. 17 : II), montrant un maximum d'excitation à 370 mμ. Le fluorophore de la noradrénaline n'est transformé que de façon transitoire dans sa forme non quinoïdale (Fig. 17 : V), mais à la suite d'un traitement prolongé à l'HCl, il est rapidement converti, par perte d'un OH en 6,7-dihydroisoquinoléine (Fig. 17 : VII) ayant un maximum

d'excitation à 320 m μ .

Pour les fibres catécholaminergiques pinéalopètes de Lacerta, le spectre d'excitation est déplacé après un traitement aux vapeurs d'HCl durant 30 secondes et son pic se situe alors à une longueur d'onde de 370 m μ (Fig. 16) ; lorsque le traitement est prolongé (4 mn), le maximum d'excitation est alors observé à 320 m μ (Fig. 16). Le neurotransmetteur normal de telles fibres est donc la noradrénaline.

II - ULTRASTRUCTURE DES TERMINAISONS NORADRENERGIQUES PINEALOPETES (CHEZ LACERTA VIVIPARA)

Nous venons de montrer la présence de noradrénaline dans les fibres pinéalopètes, uniquement à des stades très avancés (39 et 40) de l'embryogenèse (notamment chez Lacerta vivipara). On pouvait se demander si de telles fibres n'avaient pas encore colonisé les espaces périvasculaires épiphysaires ou bien si les neurones auxquels elles appartiennent ne sont pas aptes à synthétiser les catécholamines.

A - Trois jours après la naissance

Des terminaisons noradrénergiques sont aisément identifiées dans les espaces péricapillaires, à proximité de la lamelle basale qui circonscrit la vésicule épiphysaire (Pl. XLVII fig. 1). D'aspect très clair et essentiellement riches en neurotubules, elles sont agencées en petits faisceaux. A proximité de la lamelle basale, elles se renflent en un bouton terminal, dans lequel on reconnaît les trois types fondamentaux de vésicules, décrits dans les terminaisons axoniques du système neurovégétatif (Réf in : TAXI et DROZ, 1966a ; COLLIN et KAPPERS, 1968) : petites vésicules claires de 500 Å de diamètre moyen (vésicules de type I, TAXI et DROZ, 1966a ou de type A, COLLIN et KAPPERS, 1968) , petites vésicules de même diamètre que les précédentes, mais contenant un coeur dense (vésicules de type II, TAXI et DROZ, 1966a ou de type B, COLLIN et KAPPERS, 1968) et enfin vésicules à coeur dense de 1200 Å de diamètre moyen (vésicule de type III, TAXI et DROZ, 1966a ou de type C, COLLIN et KAPPERS, 1968).

Cependant, les terminaisons noradrénergiques sont, ici, extrêmement pauvres en matériel vésiculaire (Pl. XLVII, fig. 1), et notamment, en petites vésicules à coeur dense (type C, COLLIN et KAPPERS, 1968). Aucune pénétration intra-épithéliale de ces fibres n'a pu être observée.

B - Au cours de l'ontogenèse

Du stade 30 au stade 39, aucune terminaison nerveuse, présentant les caractères cytologiques fondamentaux des fibres orthosympathiques, n'a pu être décelée à la périphérie de l'épiphyse. Des procès cellulaires, dépourvus de matériel vésiculaire mais susceptibles de correspondre à des prolongements axoniques, ne sont pas non plus reconnus (ceci néanmoins dans une région relativement proche de l'épiphyse -jusqu'à 20 μ m- puisque nos observations sont toujours réalisées en repérant la lamelle basale péri-épiphysaire).

Malgré les nombreuses préparations cytologiques examinées, seuls deux boutons terminaux (Pl. XLVII, fig. 3) ont pu être identifiés au stade 40. Ils présentent des caractères cytologiques identiques à ceux que nous venons de décrire, au 3ème jour qui suit la naissance. Les difficultés que nous avons rencontrées, lors de la recherche des terminaisons noradrénergiques, témoignent de leur faible représentation. Signalons, cependant, que de rares sections de faisceaux nerveux, regroupant 3 ou 4 prolongements riches en neurotubules -mais exempts de matériel vésiculaire- pourraient éventuellement correspondre à des territoires subterminaux d'axones noradrénergiques. D'importants faisceaux nerveux, constitués d'un nombre élevé de procès axoniques, sont parfois reconnus dans des zones relativement éloignées de la lamelle basale délimitant l'épithélium épiphysaire (Pl. XLVII, fig. 2). Etant donné l'absence des 3 types caractéristiques de vésicules, à ce niveau, la nature exacte de ces éléments nerveux ne peut être précisée sur la base des seules observations ultrastructurales.

III - DISCUSSION

La démonstration du fluorophore vert, à partir du stade 39, et son absence après omission d'un traitement aux vapeurs de formaldéhyde sont significatives de la présence de catécholamines dans les fibres nerveuses pinéaloépithéliales qui se mettent en place.

La réserpine, même à des doses très élevées, ne provoque pas la déplétion des catécholamines des fibres pinéaloépithéliales. COLLIN (1969a) obtient les mêmes résultats chez l'adulte de Lacerta viridis et muralis et propose plusieurs hypothèses auxquelles nous nous rapportons.

Etant donné la spécificité des techniques mettant en jeu la noradrénaline-³H (ou son précurseur immédiat la dopamine-³H) pour la détection des fibres aminergiques du système nerveux autonome (TAXI et DROZ, 1966a et b ; CALAS, 1974), il ne fait aucun doute que l'épiphyse de l'embryon âgé (stade 40) est bien innervée par un système pinéaloépithélial catécholaminergique. Ces résultats s'accordent parfaitement avec nos données histochimiques.

L'analyse microspectrofluorimétrique a été effectuée chez l'adulte, pour lequel les caractéristiques spectrales du fluorophore vert (maxima d'émission et d'excitation à 475 et 420 mμ) correspondent à une catécholamine primaire (BJÖRKLUND, EHINGER et FALCK, 1968). Les modifications, obtenues après traitement prolongé aux vapeurs de HCl (déplacement du maximum d'excitation de 420 à 320 mμ), montrent que nous avons affaire à de la noradrénaline plutôt qu'à de la dopamine. Les spectres sont tout à fait semblables à ceux de BJÖRKLUND, EHINGER et FALCK (1968) et de BJÖRKLUND, FALCK et OWMAN (1971).

Les difficultés que nous avons rencontrées, lors de la recherche des éléments nerveux pinéaloépithéliaux, rendent compte du faible contingent de fibres, au cours de l'ontogenèse et même 3 jours après la naissance. Que ce soit chez l'embryon au stade 40 ou chez le nouveau-né, les terminaisons noradrénergiques sont strictement localisées à la périphérie de l'épiphyse. Une pénétration de ces éléments dans l'épithélium

épiphysaire ou dans la lumière de l'organe, comme c'est le cas chez l'adulte de Lacerta (COLLIN, 1967c ; 1969a ; COLLIN et KAPPERS, 1968 ; WARTENBERG et BAUMGARTEN, 1968, 1969a), semble pouvoir être exclue.

Notre étude cytologique souligne par ailleurs la rareté ou l'absence des petites vésicules à coeur dense (vésicules de type II, TAXI et DROZ, 1966a, ou de type B, COLLIN et KAPPERS, 1968). Or celles-ci sont considérées comme étant le support du stockage de la noradrénaline (TAXI et DROZ, 1966b).

Chez le Rat, où les catécholamines apparaissent massivement dans les espaces péri-épiphysaires, dès la 2ème heure, qui suit la naissance (MACHADO, WRAGG, MACHADO, 1968), les terminaisons nerveuses pinéalopètes ne montrent pas de vésicules de type II jusqu'au 2ème jour qui suit la naissance (MACHADO, MACHADO, WRAGG, 1968).

Après action de la réserpine, au 1er jour qui suit la naissance, MACHADO, MACHADO et WRAGG (1968) obtiennent une déplétion totale du contenu en catécholamines des fibres nerveuses pinéalopètes, sans que puisse être décelée la moindre modification cytologique ; la drogue ne provoque aucun effet sur l'aspect et le nombre des vésicules de type I et III. Ces auteurs suggèrent que la forme de stockage de la noradrénaline, chez le nouveau-né du Rat, est différente de celle reconnue chez l'adulte (BONDAREFF et GORDON, 1966) : le neurotransmetteur pourrait se présenter sous la forme d'un "pool" extra-granulaire. Chez l'embryon et le nouveau-né de Lacerta le nombre restreint (ou l'absence) de vésicules de type II, ne peut donc expliquer la faible teneur en catécholamines, notée après application de la technique de FALCK et HILLARP. Il semble, par contre, qu'elle soit en rapport avec le faible contingent de fibres noradrénergiques.

Nous envisageons maintenant le rôle éventuel de cette innervation, à la lueur de nos résultats et de ceux obtenus chez les Mammifères. Un résumé des données acquises chez le Rat va nous permettre d'établir une comparaison avec Lacerta.

Chez l'adulte (WURTMAN et al., 1968 ; WOLSTENHOLME et KNIGHT, 1971 ; AXELROD, 1974, QUAY, 1974), la noradrénaline contrôle le rythme circadien des biosynthèses indoliques.

Chez le nouveau-né, par des méthodes biochimiques et histophysiologiques, il est établi que les terminaisons des fibres se chargent en noradrénaline dès la deuxième heure qui suit la naissance (MACHADO, WRAGG et MACHADO, 1968), c'est-à-dire antérieurement à l'apparition de la sérotonine (au 3ème jour : QUAY et HALEVY, 1962 ; ZWEIG et al., 1966 ; MACHADO, WRAGG et MACHADO, 1968 ; SNYDER, 1968 ; HERNANDEZ et ILLNEROVA, 1970 ; ILLNEROVA, 1971) ; le rythme circadien de la 5-HT est seulement décelé au 6e jour (ZWEIG et al., 1966 ; SNYDER, 1968 ; ILLNEROVA, 1971).

Cependant, le contrôle des biosynthèses indoliques et, celui de leurs rythmes éventuels s'effectueraient selon des modalités différentes, chez le nouveau-né et chez le Rat adulte.

En effet, la greffe intra-oculaire de la pinéale (WRAGG et al., 1967), de même que l'immunosympathectomie (MACHADO, WRAGG et MACHADO, 1969) ou la résection chirurgicale des ganglions cervicaux supérieurs (MACHADO, MACHADO et WRAGG, 1969 ; AXELROD, 1971) n'empêchent pas l'apparition de la sérotonine et de ses rythmes.

Par ailleurs, l'activité N-acétyl transférasique (NAT) -impliquée dans la voie de la biosynthèse de la mélatonine (Fig. 9)- ne serait pas non plus soumise au contrôle de la noradrénaline (ILLNEROVA, 1975), comme c'est le cas chez l'adulte (KLEIN et al., 1971 ; AXELROD, 1974). En effet, la présence de NAT, à la naissance, précède la mise en place de l'innervation noradrénergique. De plus, la ganglionectomie chimique (ILLNEROVA, 1975) n'abolit pas, au 12ème jour de la vie postnatale, le rythme de la NAT. ZWEIG et al., (1966) ; SNYDER (1968) et DEGUCHI (1975) considèrent que la lumière exerce, chez le nouveau-né, un contrôle sur les biosynthèses indoliques par l'intermédiaire d'une voie extra-rétinienne (contrairement à ce qui est reconnu chez l'adulte : AXELROD et WURTMAN, 1968).

Enfin, DEGUCHI (1975) fait accoupler des rats à l'obscurité et maintient les femelles dans de telles conditions durant toute la gestation. Les jeunes rats, nés et maintenus à l'obscurité pendant 23 jours, montrent néanmoins un rythme de l'activité-N-acétyl-transférase. Selon cet auteur : "these results indicate that the biological clock that regulates the circadian rhythm in N-acetyltransferase activity is generated in the central nervous system, independent of environmental lighting".

Pour la première fois chez un Vertébré, les observations réalisées chez Lacerta vivipara permettent d'établir de façon directe que le déclenchement des biosynthèses indoliques (stade 36) est indépendant de l'influence du système noradrénergique (apparition au stade 39) et vraisemblablement du facteur lumière, si l'on tient compte de la localisation intra-utérine des embryons.

Si l'innervation noradrénergique participe à la régulation des biosynthèses indoliques chez Lacerta -comme c'est le cas chez d'autres Amniotes- son intervention se situe très vraisemblablement après la naissance.

Ces conclusions sont conformes à celles formulées par les différents auteurs (voir antérieurement), à la suite des expériences effectuées chez le Rat et soulignent, de plus, la précocité de la mise en place des différents systèmes monoaminergiques, comparativement à ce dernier.

En résumé : l'organe pinéal de l'adulte de Lacerta vivipara montre une innervation noradrénergique localisée à sa périphérie, dans l'épithélium sensoriel et dans la lumière. La noradrénaline est le neurotransmetteur normal de telles terminaisons pinéalopètes. Chez l'embryon de Lacerta vivipara et Lacerta viridis, cette innervation se met en place à partir du stade 39, c'est-à-dire en fin d'embryogenèse. Comme chez le nouveau-né du Rat (à la 4ème heure qui suit la naissance : MACHADO, WRAGG et MACHADO, 1968), le neurotransmetteur apparaît dans des axones appartenant exclusivement à la capsule pinéale et il se présente vraisemblablement, en majeure partie, sous la forme d'un "pool" agranulaire.

La colonisation des espaces péricapillaires par les fibres nerveuses pinéalopètes et leur mise en charge en noradrénaline sont deux phénomènes concomittants.

La noradrénaline ne joue vraisemblablement aucun rôle dans le déclenchement des biosynthèses indoliques. Par ailleurs, étant donné la position intra-utérine des embryons, il est également difficile de considérer une intervention directe de la lumière dans la régulation des biosynthèses indoliques.

CONCLUSIONS - RESUME

Notre étude apporte une contribution au problème de l'origine des organes pariétaux chez les Reptiles. Elle permet de retracer les modalités de différenciation et de rudimentation sensorielle de l'épiphyse de Lacerta. Par ailleurs, elle établit la présence d'une activité sécrétoire (de type neurohormonal ?) et d'un métabolisme indolique dans l'épiphyse au cours de l'embryogenèse.

Bien que nos recherches aient plus spécifiquement envisagé certains aspects cytophysiologiques de l'épiphyse embryonnaire, nous avons tenté, chaque fois que cela a été possible, d'établir une comparaison avec l'oeil pariétal dans le but de mieux saisir les points communs et les différences fondamentales dans l'orientation fonctionnelle de ces deux dérivés épidiencéphaliques.

°
° °

Nos études embryologiques sur l'origine des dérivés pariétaux chez Lacerta vivipara montrent que l'épiphyse et l'oeil pariétal s'édifient à partir de deux ébauches antéro-postérieures du toit diencéphalique, contiguës, mais strictement indépendantes. L'ébauche de l'oeil pariétal s'évagine à la fin du stade 27 alors que celle de l'épiphyse s'évagine au début du stade 28. Chacun des deux organes résulte de la fusion de deux territoires, qui correspondent vraisemblablement à des ébauches primitivement paires et symétriques.

L'étude des zones de prolifération cellulaire, après injection de thymidine-³H, permet de préciser les modalités de croissance des deux organes. Le territoire de l'oeil pariétal est défini précocement puisque ce dernier se développe, dès le stade 29, par suite d'une multiplication des cellules qui lui sont propres. Par contre du matériel neuroectodermique s'incorpore à l'épiphyse durant une période étendue de l'embryogenèse

et participe activement à son édification.

°
° °

Des observations en microscopie photonique, il ressort que l'oeil pariétal et l'épiphyse ont en commun la présence de trois types cellulaires fondamentaux : cellules de type sensoriel, cellules interstitielles de type épendymaire et neurones sensoriels. Bien que différée, l'histogenèse de l'épiphyse apparaît identique à celle de la rétine de l'oeil pariétal.

Cependant, nos recherches ultrastructurales ont permis de révéler la présence, dans l'épiphyse, de nombreuses cellules de type sensoriel qui, bien que pourvues de pôles récepteurs typiques, montrent une différenciation incomplète de leurs pédicules synaptiques. Ces cellules correspondent aux futurs photorécepteurs rudimentaires sécrétoires (PRS). Les PRS de Lacerta, au cours de l'ontogenèse, sont donc des photorécepteurs dont les pôles transmetteurs ont déjà acquis un caractère rudimentaire. L'absence de connexions synaptiques typiques, entre les pédicules basaux des PRS embryonnaires et les dendrites des neurones sensoriels, est en relation avec la rudimentation graduelle du potentiel photorécepteur de l'épiphyse des Vertébrés. Cependant, il doit être possible, chez des Vertébrés plus inférieurs, de démontrer la présence de photorécepteurs typiques qui évoluent ultérieurement en PRS. Par ailleurs, on pourra vraisemblablement prouver, au cours des phases ontogénétiques, que les PRS sont à l'origine des pinéalocytes des Ophidiens. Chez les Mammifères, CLABOUGH (1973) et surtout ZIMMERMAN et TSO (1975) sont parvenus à montrer que les pinéalocytes dérivent de cellules, qui, au cours de l'embryogenèse, présentent des caractères de photorécepteurs (bipolarité et structure ciliaire 9 + 0) les apparentant à certaines "cellules de la lignée sensorielle" (COLLIN, 1969a).

Chez Lacerta vivipara, la rudimentation des pôles récepteurs des PRS s'effectue immédiatement après la naissance, par suite d'une dégénérescence des disques. La démonstration de structures sensorielles typiques (disques), au niveau des segments externes des PRS, témoigne de leur origine photoréceptrice et

justifie la filiation établie entre les photorécepteurs des Anamniotes et les PRS des Sauropsidés. Nos études ontogéniques apportent donc des preuves en faveur du concept des "cellules de la lignée sensorielle = CLS" (COLLIN, 1969a).

Comme chez l'adulte, il existe, chez l'embryon, une pluralité des CLS ; en effet, de rares cellules de type sensoriel sont capables de différencier simultanément des pôles récepteurs et transmetteurs typiques. Celles-ci correspondent aux futurs photorécepteurs et elles apparaissent comme étant les analogues structuraux et vraisemblablement fonctionnels (à des stades post-embryonnaires) des photorécepteurs de l'oeil pariétal, où il semble que ce soit le seul type de cellule sensorielle représenté, tant chez l'embryon que chez l'adulte (revue d'EAKIN, 1973).

En relation avec la faible rudimentation de son potentiel photorécepteur au cours de l'embryogenèse, l'épiphyse de Lacerta différencie un système d'innervation sensorielle bien développé. Les neurones sensoriels sont nombreux, comme c'est le cas dans l'oeil pariétal embryonnaire, organe typiquement photorécepteur. Ces observations ouvrent la voie à de nouvelles investigations pour cerner les modalités de régression des neurones sensoriels épiphysaires au cours de phases post-natales puisque ces derniers, sont très rares chez l'adulte (KAPPERS, 1967 ; COLLIN, 1969).

Les CLS, capables de différencier un maximum de disques, se situent toujours dans l'épiphyse distale. Les segments externes, au fur et à mesure que l'on se rapproche de la région moyenne épiphysaire, sont de moins en moins pourvus de disques, jusqu'à ne montrer qu'une massue ciliaire. La différenciation des structures sensorielles s'effectue donc selon un gradient disto-proximal.

°

° °

L'évolution de l'organe pinéal de Lacerta dans le sens d'une activité sécrétoire est évidente au cours de l'ontogenèse. L'appareil de synthèse protéique, surtout représenté dans le segment interne, est particulièrement développé au niveau des PRS embryonnaires.

Par ailleurs, une genèse golgienne de grains denses est établie dans ce type cellulaire, dès le stade 32. Le nombre et la taille de ces grains de sécrétion augmentent au cours de l'ontogenèse, dans les pédicules basaux qui représentent alors la principale sinon l'unique zone de stockage.

La nature et le rôle de cette sécrétion restent encore indéterminés. La présence de principes protéiques (neurohormones ?) méritera ultérieurement d'être considérée. En effet, chez les Mammifères, des travaux biochimiques et expérimentaux préliminaires font état de facteurs peptidiques et polypeptidiques épiphysaires ayant des actions anti et progonadotropes (Revue de QUAY, 1974 et de BOISSEAU, 1976). Par ailleurs, VIVIEN (1965) enregistre chez Tropidonotus natrix des signes de stimulation de l'activité sécrétoire, après injection d'extraits gonadotropes d'origine chorionique.

Il est difficile de préciser, en l'absence de données expérimentales si un phénomène d'excrétion intervient au cours de l'ontogenèse. On note seulement que les pédicules basaux n'ont pas encore pleinement acquis une polarité vasculaire et que le réseau de capillaires péri-épiphysaire reste, jusqu'à des stades avancés, relativement éloigné de la lamelle basale qui circonscrit la vésicule pinéale. Néanmoins, soulignons que cette disposition morphologique des pédicules basaux n'empêche nullement l'"uptake" des précurseurs de la sérotonine ni l'excrétion des produits du métabolisme indolique.

Les PRS qui stockent le maximum de grains de sécrétion sont localisés dans l'épiphyse distale. Le nombre de ces grains diminue au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'épiphyse proximale. L'activité sécrétoire se différencie donc selon un gradient disto-proximal.

Dans les photorécepteurs typiques, les grains denses sont absents ou bien extrêmement rares tout au long de la vie embryonnaire. Leur signification fonctionnelle est vraisemblablement différente de celle des grains de sécrétion qui caractérisent les PRS. Ils sont cytologiquement identiques à ceux décelés dans les cellules ganglionnaires. Leur rôle exact reste

encore inconnu mais ils pourraient éventuellement intervenir dans la transmission du message sensoriel.

Dans l'oeil pariétal embryonnaire et post-embryonnaire (EAKIN, 1973), vraisemblablement en relation avec la présence exclusive de photorécepteurs, une telle activité sécrétoire n'a jamais été mentionnée.

°

° °

La technique de FALCK et HILLARP, extrêmement sensible et spécifique, a permis de mettre en évidence un "pool" d'indolamines dans l'épiphyse, dès le stade 36. L'analyse microspectrofluorimétrique des fluorophores jaunes permet de préciser que nous avons affaire à de la sérotonine (5-HT) et peut-être aussi à son précurseur immédiat le 5-hydroxytryptophane (5-HTP). Pour la première fois chez un Amniote est démontrée l'existence de biosynthèses indoliques dans l'épiphyse, au cours de la vie embryonnaire. Il est important de noter qu'une telle activité n'apparaît pas au niveau de l'oeil pariétal.

La présence d'un "pool" de 5-HT, laisse supposer que l'épiphyse possède dès le stade 36, les systèmes enzymatiques, tryptophane hydroxylasique et 5-hydroxytryptophane décarboxylasique, lui permettant de réaliser la biosynthèse de la 5-HT.

La 5-HT apparaît successivement de la région distale vers la région proximale, au niveau des cellules de type sensoriel en voie de différenciation. Le stockage de la 5-HT s'effectue donc selon un gradient disto-proximal.

°

° °

L'utilisation d'un précurseur indolique, le 5-hydroxytryptophane-³H (5-HTP-³H), a permis de préciser certains aspects du métabolisme indolique au cours de l'ontogenèse.

L'incorporation du 5-HTP-³H, dans les conditions normales et expérimentales (après action de drogues interférant sur le métabolisme indolique : Ro₄-4602 et nialamide), fournit

des résultats très comparables chez l'embryon au stade 40 et chez l'adulte (COLLIN et MEINIEL, 1973a,b). La séquence des événements inhérent aux transformations biochimiques du 5-HTP sont donc vraisemblablement très similaires. En conséquence, les systèmes enzymatiques (en particulier 5-hydroxytryptophane décarboxylasique et monoamine oxydasique) apparaissent déjà bien différenciés, au stade 40.

Nos études radioautographiques soulignent par ailleurs l'importance de la voie catabolique de la 5-HT à ce stade de l'embryogenèse.

Les cellules de la lignée sensorielle paraissent jouer un rôle essentiel dans la biosynthèse, le stockage et le catabolisme de la 5-HT.

Aux stades embryonnaires concernés par des biosynthèses indoliques (36 à 40), les sites de stockage des dérivés radioactifs correspondent à ceux des indolamines endogènes, mis en évidence par la méthode de FALCK et HILLARP. Par ailleurs, le taux (étudié par microphotométrie) croissant de radioactivité au cours de l'ontogenèse est en bon accord avec l'appréciation oculaire de la quantité des fluorophores aux différents stades de l'embryogenèse.

La mise en évidence d'une pluralité des CLS, au cours de l'ontogenèse, nous a conduit à préciser, par des méthodes radioautographiques à haute résolution, le type cellulaire impliqué dans le métabolisme indolique. Par ailleurs, nous avons recherché les rapports, pouvant exister entre l'état de différenciation cytologique des CLS et leur aptitude à synthétiser des indolamines.

Les PRS sont les seules cellules de la lignée sensorielle impliquées dans le métabolisme des indolamines. Il est possible que la mise en place des biosynthèses indoliques épiphysaires soit en relation avec la rudimentation, ce qui expliquerait, d'une part, l'absence d'incorporation du précurseur indolique au niveau des photorécepteurs typiques épiphysaires et, d'autre part, l'incapacité pour l'oeil pariétal de synthétiser des indolamines, étant donné la présence exclusive, dans cet organe, de

photorécepteurs. Cependant, en relation avec la rudimentation sensorielle graduelle de l'épiphyse, il n'est pas impossible, dans l'organe pinéal des Anamniotes, que des photorécepteurs, encore cytologiquement bien différenciés, soient aptes à synthétiser des indolamines ; de tels éléments correspondraient aux précurseurs des photorécepteurs rudimentaires.

Le marquage radioactif, dans les PRS, est le plus souvent associé aux grains de sécrétion. Par ailleurs, il existe des rapports quantitatifs, au cours de l'ontogenèse, entre le taux des indolamines radioactives et les concentrations de grains de sécrétion stockés dans les pédicules basaux des PRS.

Ainsi, une association des indolamines aux protéines granulaires semble évidente. Cependant, une telle situation n'est pas générale chez les Vertébrés. En effet, même en l'absence de grains de sécrétion, un stockage d'indolamines peut être mis en évidence. Une comparaison détaillée des rapports indolamines-grains de sécrétion chez les Vertébrés a fait l'objet d'un travail antérieur (COLLIN et MEINIEL, 1971). Les indolamines sont alors vraisemblablement libres et/ou liées à une protéine cytoplasmique.

Les variations expérimentales du taux des indolamines radioactives, obtenues après inhibition de la 5-hydroxytryptophane décarboxylase par le Ro₄-4602 et de la monoamine oxydase par le nialamide, témoignent d'une différenciation précoce des systèmes enzymatiques impliqués dans le métabolisme de la 5-HT.

La 5-hydroxytryptophane décarboxylase, intervenant dans la biosynthèse de la 5-HT et la monoamine oxydase, responsable de la désamination oxydative de la 5-HT, sont déjà synthétisées au stade 35. Dans l'expectative de la présence du substrat endogène (5-HTP), l'épiphyse pourrait éventuellement réaliser la biosynthèse d'indolamines antérieurement au stade 36 ; la visualisation d'indolamines endogènes par la technique de FALCK et HILLARP et exogènes par des méthodes radioautographiques correspondraient alors uniquement au début du phénomène de stockage de la 5-HT.

La détection histoenzymologique de l'activité monoamine oxydasique a permis de préciser que l'enzyme est présente dans

l'épiphyse distale dès le stade 34. La maturation de ce système enzymatique s'effectue ensuite selon un gradient épiphysaire disto proximal.

Nos recherches radioautographiques permettent de considérer que l'oeil pariétal embryonnaire, à l'inverse de l'épiphyse, n'est pas impliqué dans le métabolisme indolique.

°
° °

Chez l'embryon de Lacerta vivipara, une innervation noradrénergique se met en place à partir du stade 39. La colonisation des espaces péricapillaires par les fibres nerveuses pinéalopêtes et leur mise en charge en noradrénaline (identifiée par des méthodes microspectrofluorimétriques) sont deux phénomènes concomitants. Cette innervation, susceptible de contrôler, chez l'adulte, les biosynthèses indoliques épiphysaires, ne joue aucun rôle dans leur déclenchement. En effet, chez l'embryon, celle-ci se met en place postérieurement (stade 39) à l'apparition des indolamines (stade 36), de telle sorte que la synthèse de la 5-HT apparait indépendante de l'innervation noradrénergique (du moins jusqu'au stade 39).

Par ailleurs, étant donné la position intra-utérine des embryons, il semble peu probable que la lumière puisse intervenir directement dans le contrôle des biosynthèses indoliques. Comme c'est le cas chez les Mammifères, il est possible que le mode de régulation des biosynthèses indoliques soit différent chez l'embryon et chez l'adulte.

En relation vraisemblablement avec l'absence de métabolisme indolique, un tel système d'innervation n'a pu être mis en évidence au niveau de l'oeil pariétal.

°
° °

Ainsi, l'oeil pariétal et l'épiphyse embryonnaires de Lacerta, bien qu'étant des ébauches contiguës et possédant de grandes analogies structurales chez l'embryon et des caractères photosensoriels communs chez l'adulte, montrent des différences essentielles.

Comparativement à l'oeil pariétal, la différenciation tout d'abord d'une activité sécrétoire (neurohormonale ?) puis la maturation du métabolisme indolique semblent être des attributs de l'épiphyse de Lacerta. Cette différence ne peut que renforcer la conclusion d'ARIENS KAPPERS (1967), dans un travail sur l'innervation :

"The parietal eye sensory system and the pineal sensory system although being closely related peripherally as regards their phylogenetic and ontogenetic development as well as their sensory modalities may play a quite different functional role in respect to the general physiology of the animal."

Dans l'épiphyse embryonnaire de Lacerta, la capacité d'utiliser le 5-HTP-³H pour un PRS peut être mise en parallèle avec sa faculté de synthétiser et de stocker des grains denses d'origine golgienne. Par ailleurs, les PRS, possédant un maximum de grains de sécrétion, à un stade embryonnaire donné, se situent dans l'épiphyse distale. La confrontation de ces résultats permet donc de préciser que la capacité de synthétiser et de stocker la 5-HT (MEINIEL, COLLIN et HARTWIG, 1973), d'utiliser le 5-HTP-³H (MEINIEL, COLLIN et ROUX, 1975 ; MEINIEL, 1976b) ou de posséder des activités enzymatiques (exemple MAO) pour un PRS embryonnaire est en rapport avec son stade de différenciation cytologique. Il y a concordance entre le gradient de différenciation biochimique et celui de différenciation morphologique.

Le gradient de maturation cellulaire disto-proximal de l'épiphyse a pu être interprété grâce à la mise en évidence expérimentale des zones de proliférations cellulaires basales annulaires. Celles-ci, fonctionnelles jusqu'à des stades très avancés de l'embryogenèse, impliquent une intégration, à partir des régions proximales, de matériel neuroectodermique indifférencié et la présence à l'apex (région distale) des cellules les plus âgées et donc les mieux différenciées.

Au niveau de l'oeil pariétal, les cellules qui se multiplient sont dispersées dans toute l'ébauche. Il est vraisemblable qu'il n'existe pas un gradient du même type.

En conclusion, l'épiphyse embryonnaire est dotée de multiples potentialités : photoréceptrice, neurohormonale ? et neurohumorale. En l'absence du stimulus lumière, le potentiel photorécepteur ne peut néanmoins s'exprimer, au cours de l'embryogenèse.

BIBLIOGRAPHIE

- ARSTILA, A.U. (1967). - Electron microscopic studies on the structure and histochemistry of the pineal gland of the rat. Neuroendocrinology, 2, Suppl., 1-110.
- ARVY, L. (1966). - La glande pinéale, centre régulateur des amines biogènes. Ann. Biol., 5, 565-594.
- AXELROD, J. (1971). - Neural control of indoleamine metabolism in the pineal. In : The pineal gland. Symposium of the Ciba Foundation. G.E.W. Wolstenholme and J. Knight, ed. (London), 35-47.
- AXELROD, J. (1974). - The pineal gland : a neurochemical transducer. Science, 184, 1341-1348.
- AXELROD, J. and WURTMAN, R.J. (1968). - Photic and neural control of indoleamine metabolism in the rat pineal gland. Adv. Pharmacol., 6, 157-166.
- BARGMANN, W. (1943). - Die Epiphysis cerebri. In : Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, VI/4, Springer : Berlin, 309-502.
- BERANECK, E. (1887). - Über das Parietalaug der Reptilien. Jen. Z. Naturwiss., 21, 374-410.
- BERANECK, E. (1892). - Sur le nerf pariétal et la morphologie du troisième oeil des Vertébrés. Anat. Anz., 7, 674-689.
- BERANECK, E. (1893). - L'individualité de l'oeil pariétal. Réponse à M. de Klinckowström. Anat. Anz., 8, 669-677.
- BIBB, C. and YOUNG, R.W. (1974). - Renewal of fatty acids in the membranes of visual cell outer segments. J. Cell Biol., 61, 327-343.
- BOISSEAU, J. (1976). - Contribution à l'étude de la glande pinéale des mammifères. Etude analytique et mise en évidence d'un peptide progonadotrope. Thèse Doctorat d'Etat. Université de Rennes, Série B, n° 137.

- BJÖRKLUND, A., EHINGER, B. and FALCK, B. (1968). - A method for differentiating dopamine from noradrenaline in tissue sections by microspectrofluorometry. J. Histochem. Cytochem., 16, 263-270.
- BJÖRKLUND, A., FALCK, B. and HÅKANSON, R. (1968). - Histochemical demonstration of tryptamine. Properties of the formaldehyde-induced fluorophores of tryptamine and related indole compounds in models. Acta physiol. scand., Suppl. 318, 1-31.
- BJÖRKLUND, A., FALCK, B. and OWMAN, Ch. (1971). - Fluorescence microscopic and microspectrofluorometric techniques for the cellular localization and characterization of biogenic amines. In : I. Kopin (ed.) : Methods in investigative and diagnostic Endocrinology. North Holland Publ. Company : Amsterdam.
- BJÖRKLUND, A., OWMAN, Ch. and WEST, K.A. (1972). - Peripheral sympathetic innervation and serotonin cells in the habenular region of the rat brain. Z. Zellforsch., 127, 570-579.
- BONDAREFF, W. and GORDON, B. (1966). - Submicroscopic localization of norepinephrine in sympathetic nerves of the rat pineal. J. Pharmacol. exp. therap., 153, 1, 42-47.
- CALAS, A. (1974). - L'innervation peptidergique et monoaminergique de l'émience médiane. Etude cytophysiologique chez les Oiseaux. Thèse Doctorat d'Etat, Université des Sciences et techniques du Languedoc-Montpellier. A.O. CNRS N° 9982.
- CAMERON, J. (1903). - On the origin of the pineal body as an amesial structure, deduced from the study of its development in Amphibia. Anat. Anz., 23, 394-395.
- CARLSSON, A. and HILLARP, N.A. (1956). - Release of adrenaline from the adrenal medulla of rabbits produced by reserpine. Kungl. Fysiogr. Sällsk. Lund Förh., 26, 1-2.
- CLABOUGH, J. (1973). - Cytological aspects of pineal development in Rats and Hamsters. Am. J. Anat., 137, 215-230.

- COLLIN, J.P. (1966a). - Contribution à l'étude des follicules de l'épiphyse embryonnaire d'Oiseau. C.R.Acad.Sci. (Paris), 262, 2263-2266.
- COLLIN, J.P. (1966b). - Etude préliminaire des photorécepteurs rudimentaires de l'épiphyse de Pica pica L. pendant la vie embryonnaire et postembryonnaire. C.R.Acad.Sci. (Paris), 263, 660-663.
- COLLIN, J.P. (1967a). - Structure, nature sécrétoire, dégénérescence partielle des photorécepteurs rudimentaires épiphysaires chez Lacerta viridis (Laurenti). C.R.Acad.Sci. (Paris), 264, 647-650.
- COLLIN, J.P. (1967b). - Le photorécepteur rudimentaire de l'épiphyse d'Oiseau : le prolongement basal chez le Passereau Pica pica L. C.R.Acad.Sci. (Paris), 265, 48-51.
- COLLIN, J.P. (1967c). - Recherches préliminaires sur les propriétés histochimiques de l'épiphyse de quelques Lacertiliens. C.R.Acad.Sci. (Paris), 265, 1827-1830.
- COLLIN, J.P. (1968a). - Rubans circonscrits par des vésicules dans les photorécepteurs rudimentaires épiphysaires de l'Oiseau : Vanellus vanellus (L.) et nouvelles considérations phylogénétiques relatives aux pinéalocytes (ou cellules principales) des Mammifères. C.R.Acad.Sci. (Paris), 267, 758-761.
- COLLIN, J.P. (1968b). - Pluralité des "potorécepteurs" dans l'épiphyse de Lacerta. C.R.Acad.Sci. (Paris), 267, 1047-1050.
- COLLIN, J.P. (1968c). - L'épiphyse des Lacertiliens : relations entre les données microélectroniques et celles de l'histochimie (en fluorescence U.V.) pour la détection des indole-et catécholamines. C.R.Soc.Biol., 162, 1785-1789.
- COLLIN, J.P. (1969a). - Contribution à l'étude de l'organe pinéal. De l'épiphyse sensorielle à la glande pinéale : modalités de transformation et implications fonctionnelles. Ann.Stn biol. Besse-en-Chandesse, Fr. Suppl. n°1, 1-359.
- COLLIN, J.P. (1969b). - Cellules ganglionnaires et tractus de l'organe pinéal de Lampetra planeri. J. Neuro-Visc. Rel., 31, 308-333.

- COLLIN, J.P. (1969c). - Distinction et rapports entre les pédicules basaux des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires (=P.R.S.) et les afférences nerveuses monoaminergiques de l'épiphyse d'Oiseau. Recherches chez le poussin de Passereau (Pica pica L.). C.R.Soc. Biol., 163, 1137-1142.
- COLLIN, J.P. (1971). - Differentiation and regression of the cells of the sensory line in the epiphysis cerebri. In : The pineal gland. Symposium of Ciba Foundation. G.E.W. Wolstenholme and J. Knight, Ed. : London 79-125.
- COLLIN, J.P. (1976). - La rudimentation des photorécepteurs dans l'organe pinéal des Vertébrés. Colloque International CNRS, Toulouse, Septembre 1976.
- COLLIN, J.P. and ARIËNS KAPPERS, J. (1968). - Electron microscopic study of pineal innervation in Lacertilians. Prog. Brain Res., 11, 85-106.
- COLLIN, J.P. and ARIËNS KAPPERS, J. (1971). - Synapses of the ribbon type in the pineal organ of Lacerta vivipara (Reptiles, Lacertilians). Experientia (Basel), 27, 1456-1457.
- COLLIN, J.P., CALAS, A. et JUILLARD, M.T. (1975). - Incorporation de sérotonine-³H dans l'organe pinéal d'Oiseau : étude in vitro chez le Canard par radio-autographie à haute résolution. C.R.Acad.Sci. (Paris), 280, 885-888.
- COLLIN, J.P., CALAS, A. and JUILLARD, M.T. (1976). - The avian pineal organ. Distribution of exogenous indoleamines : a qualitative study of the rudimentary photoreceptor cells by electron microscopic radioautography. Exp. Brain Res., 25, 15-33.
- COLLIN, J.P., JUILLARD, M.T. et BRISSON, P. (1975). - Synthèse des indolamines dans l'organe pinéal d'Oiseau : étude radio-autographique chez la Perruche (Melopsittacus undulatus Shaw). C.R.Acad.Sci. (Paris), 280, 93-96.
- COLLIN, J.P. et MEINIEL, A. (1968a). - Les synapses de l'organe pinéal de l'Ammocète. C.R.Acad.Sci. (Paris), 266, 1293-1295.

- COLLIN, J.P. et MEINIEL, A. (1968b). - Contribution à la connaissance des structures synaptiques du type ruban dans l'organe pinéal des Vertébrés. Etude particulière en microscopie électronique des connexions de l'innervation efférente chez l'Ammocète de Lamproie de Planer. Arch.Anat.micr. Morph.exp., 57, 275-296.
- COLLIN, J.P. et MEINIEL, A. (1971). - L'organe pinéal. Etudes combinées ultrastructurales, cytochimiques (monoamines) et expérimentales, chez Testudo mauritanica. Grains denses des cellules de la lignée "sensorielle" chez les Vertébrés. Arch.Anat.micr.Morph.exp., 60, 269-304.
- COLLIN, J.P. et MEINIEL, A. (1972). - L'organe pinéal du genre Lacerta (Reptile, Lacertilien) : actions d'enzymes protéolytiques sur les grains denses (500-3400 Å) des photorécepteurs rudimentaires. C.R. Soc.Biol., 166, 370-374.
- COLLIN, J.P. et MEINIEL, A. (1973a). - Métabolisme des indolamines dans l'organe pinéal de Lacerta, (Reptiles Lacertiliens). I. Intégration sélective de 5-HTP-³H (5-hydroxytryptophane-³H) et rétention de ses dérivés dans les photorécepteurs rudimentaires sécrétoires. Z. Zellforsch., 142, 549-570.
- COLLIN, J.P. et MEINIEL, A. (1973b). - Métabolisme des indolamines dans l'organe pinéal de Lacerta (Reptiles, Lacertiliens). II. L'activité MAO et l'incorporation de 5-HTP-³H et de 5-HT-³H, dans les conditions normales et expérimentales. Z. Zellforsch., 145, 331-361.
- CORRODI, H. and JONSSON, G. (1965). - Fluorescence methods for the histochemical demonstration of monoamines. 4. Histochemical differentiation between dopamine and noradrenaline in models. J. Histochem. Cytochem., 13, 484-487.
- CORRODI, H. and JONSSON, G. (1967). - The formaldehyde fluorescence method for the histochemical demonstration of biogenic monoamines. J. Histochem. Cytochem., 15, 65-78.

- COUTEAUX, R., BOUCHAUD, C. et GAUTRON, J. (1965). - Données histochimiques sur l'inhibition in vitro et in vivo des monoamine-oxydases. Act. pharmacol., 18, 33-68
- DAHL, H.A. (1963). - Fine structure of cilia in rat cerebral cortex. Z. Zellforsch., 60, 369-386.
- DEGUCHI, T. (1975). - Ontogenesis of a biological clock for serotonin : acetyl coenzyme A N-acetyltransferase in pineal gland of rat. Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A., 72, 2814-2818.
- DE KLINCKOWSTRÖM, A. (1893). - Le premier développement de l'oeil pinéal, l'épiphyse et le nerf pariétal chez Iguana tuberculata. Anat. Anz., 8, 289-299.
- DE KLINCKOWSTRÖM, A. (1894). - Beiträge zur Kenntnis des Parietalorgans. Zool. Jahrb. Morph., 7, 561-568.
- DENDY, A. (1899). - On the development of the parietal eye and adjacent organs in Sphenodon (Hatteria). Quart. J. Micr. Sci., 42, 11-153.
- DENDY, A. (1910). - On the structure, development and morphological interpretation of the pineal organ and adjacent parts of the brain in Tuatara (Sphenodon punctatus). Anat. Anz., 37, 453-462.
- DENDY, A. (1911). - On the structure, development and morphological interpretation of the pineal organ and adjacent parts of the brain in Tuatara (Sphenodon punctatus). Phil. Trans., 201, 227-331.
- DHOUILLY, D. et SAXOD, R. (1974). - Les stades du développement de Lacerta muralis Laur. entre la ponte et l'éclosion. Bull.Soc.Zool. Fr., 99, 489-494.
- DROZ, B. (1967). - Synthèse et transfert des protéines cellulaires dans les neurones ganglionnaires. Etude radioautographique quantitative en microscopie électronique. J. Microscopie, 6, 201-228.
- DUFAURE, J.P. (1966). - Recherches descriptives et expérimentales sur les modalités et facteurs du développement de l'appareil génital chez le lézard vivipare (Lacerta vivipara Jacquin). Arch.Anat. micr. Morph. exp., 55, 437-537.

- DUFAURE, J.P. et HUBERT, J. (1961). - Table de développement du lézard vivipare : Lacerta (Zootoca) vivipara Jacquin. Arch. Anat. micr. Morph. exp., 50, 309-327.
- EAKIN, R.M. (1964). - Development of the third eye in the lizard Sceloporus occidentalis. Rev. Suisse Zool., 71, 267-285.
- EAKIN, R.M. (1973). - The third eye. University of California Press, Berkeley - Los Angeles - London, 157 pages.
- EAKIN, R.M. and WESTFALL, J.A. (1959). - Fine structure of the retina in the reptilian third eye. J. biophys. biochem. Cytol., 6, 133-134.
- EAKIN, R.M. and WESTFALL, J.A. (1960). - Further observations on the fine structure of the parietal eye of lizards. J. biophys. biochem. Cytol., 8, 483-499.
- EAKIN, R.M. and WESTFALL, J.A. (1961). - The development of photoreceptors in the stirnorgan of the treefrog Hyla regilla. Embryologia, 6, 84-98.
- ERICSON, E.L. (1972). - Formation and storage of 5-hydroxytryptamine in thyroid parafollicular cells. J. Ultrastr. Res., 41, 467-483.
- FALCK, B., HILLARP, N.A., THIEME, G. and TORP, A. (1962). - Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. J. Histochem. Cytochem., 10, 348-354.
- FALCK, B. and OWMAN, Ch. (1965). - A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biogenic monoamines. Acta Univ. Lund, 7, 1-23.
- FALCK, B., OWMAN, Ch. and ROSENGREN, E. (1966). - Changes in rat pineal stores of 5-hydroxytryptamine after inhibition of its synthesis or break-down. Acta physiol.scand., 67, 300-305.
- FENWICK, J.C. (1970). - Demonstration and effect of melatonin in fish. Gen. comp. Endocr., 14, 86-97.
- FRANCOTTE, P. (1887). - Contribution à l'étude du développement de l'épiphyse et du 3e oeil chez les reptiles. Bull. Acad. Roy. Belgique, 14, 810-840.

- FRANCOTTE, P. (1888). - Recherches sur le développement de l'épiphyse. Arch. Biol., 8, 757-821.
- FRANCOTTE, P. (1894). - Note sur l'oeil pariétal, l'épiphyse, la paraphyse et les plexus choroides du troisième ventricule. Bull. Acad. Roy. Belgique, 27, 84-112.
- FRANCOTTE, P. (1896). - Contribution à l'étude de l'oeil pariétal, de l'épiphyse et de la paraphyse chez les Lacertiliens. Mém. cour. Acad. Roy. Belgique, 55, 1-45.
- FRIEDRICH-FREKSA, H. (1932). - Entwicklung, Bau und Bedeutung der Parietalgegend bei Teleostiern. Z. Zool., 141, 53-142.
- FUJIE, E. (1968). - Ultrastructure of the pineal body of the domestic chicken with special reference to the changes induced by altered photoperiods. Arch. Histol. Jap., 29, 271-303.
- GABE, M. (1968). - Techniques histologiques. Masson et Cie, Ed. : Paris.
- GLENNER, G.G., BURTNER, H.J. and BROWN, Jr. G.W. (1957). - The histochemical demonstration of monoamine oxidase activity by tetrazolium salts. J. Histochem. Cytochem., 5, 591-600.
- GRANBOULAN, P. (1965). - Comparison of emulsions and techniques in electron microscope radioautography. Dans : The Use of Radioautography in Investigating Protein Synthesis. Leblond C.P., ed. Academic Press : New York, IV, 43-63.
- HÅKANSON, R., ÖWMAN, Ch. and SUNDLER, F. (1971). - Aromatic - L - amino acid decarboxylase in calcitonin - producing cells. Biochem. Pharmacol., 20, 2187-2190.
- HAMASAKI, D.I. and DODT, E. (1969). - Light sensitivity of the lizard's epiphysis cerebri. Pflügers Arch., 313, 19-29.
- HEDLUND, L. and NALBANDOV, A.V. (1969). - Innervation of the avian pineal body. Amer. Zool., 9, 1090

- HENDRICKSON, A.E. and KELLY, D.E. (1969). - Development of the Amphibian pineal organ ; cell proliferation and migration. Anat. Rec., 165, 211-228.
- HERNANDEZ, J. and ILLNEROVÁ, H. (1970). - 5-hydroxytryptophane decarboxylase activity in the rat pineal gland during the first 20 days of postnatal life : Effect of light. Neuroendocrinology, 6, 343-350.
- HOFFMANN, C.K. (1886). - Weitere Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte der Reptilien. Morph. Jahrbuch, 11, 176-219.
- HÖKFELT, T., FUXE, K., GOLDSTEIN, M. and JOH, T.H. (1973). - Immunohistochemical localization of three catecholamine synthesizing enzymes : aspects on methodology. Histochemie, 33, 231-254.
- HOPSU, V.K. and ARSTILA, A.U. (1965). - An apparent somato-somatic synaptic structure in the pineal gland of the rat. Exp. Cell Res., 37, 484-487.
- ILLNEROVÁ, H. (1969). - 5-hydroxytryptophan decarboxylase activity in the rat pineal body during ontogenesis. Physiol. bohemoslovaca, 18, 119-123.
- ILLNEROVÁ, H. (1971). - Effect of environmental lighting on serotonin rhythm in the rat pineal gland during postnatal development. Life Sci., 10, 583-590.
- ILLNEROVÁ, H. (1972). - The effect of light on the development of a diurnal rhythm in serotonin content and on the development of hydroxyindole-O-methyltransferase activity in the rat pineal gland. Act. Nerv. Suppl., 14, 130-131.
- ILLNEROVÁ, H. (1975). - The effect of constant light and chemical sympathectomy on the development of serotonin N-acetyltransferase and monoamine oxidase activities in the rat epiphyses. Physiol. bohemoslovaca, 24, 493-500.

- JUILLARD, M.T. et COLLIN, J.P. (1976). - Intérêt et limites des réactions argentaffine, chromaffine et argyrophile pour l'identification des sites de stockage de la 5-HT (sérotonine) dans l'organe pinéal de Lacerta muralis. J. Micr. Biol. cell., 26, 16A (résumé).
- KAPPERS, J. ARIËNS (1960). - The development topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. Z. Zellforsch., 52, 163-215.
- KAPPERS, J. ARIËNS (1965). - Survey of the innervation of the epiphysis cerebri and the accessory pineal organs of vertebrates. Prog. Brain Res., 10, 87-153.
- KAPPERS, J. ARIËNS (1966). - Note préliminaire sur l'innervation de l'épiphyse du lézard Lacerta viridis. Bull. Ass. Anat., 134, 111-116.
- KAPPERS, J. ARIËNS (1967). - The sensory innervation of the pineal organ in the lizard, Lacerta viridis, with remarks on its position in the trend of pineal phylogenetic structural and functional evolution. Z. Zellforsch., 81, 581-618.
- KAPPERS, J. ARIËNS (1969). - The mammalian pineal organ. J. Neuro-Visc. Rel., Suppl. 9, 140-184.
- KAPPERS, J. ARIËNS (1971). - The pineal organ : an introduction. In : The pineal organ. Symposium of Ciba Foundation. G.E.W. Wolstenholme and J. Knight, Ed. : London, 3-25.
- KARLSSON, U. (1966). - Three dimensional studies of neurons in the lateral geniculate nucleus of the rat. 1. Organelle organization in the perikaryon and its proximal branches. J. Ultrastr. Res., 16, 429-481.
- KELLEY, T.D. and QUAY, W.B. (1970). - Characteristics of brain and liver monoamine oxidase in a reptile Anolis carolinensis. Comp. Gen. Pharmac., 1, 323-335.

- KELLY, D.E. (1965). - Ultrastructure and development of amphibian pineal organs. Prog. Brain Res., 10, 270-285.
- KELLY, D.E. and SMITH, S.W. (1964). - Fine structure of the pineal organs of the adult frog, Rana pipiens. J. Cell Biol., 22, 653-674.
- KLEIN, D.C., WELLER, J.E. and MOORE, R.Y. (1971). - Melatonin metabolism : neural regulation of pineal serotonin : acetyl coenzyme A N-acetyltransferase activity. Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A., 68, 3107-3110.
- KRABBE, K.H. (1935). - Recherches embryologiques sur les organes pariétaux chez certains reptiles. Meddelelser, Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab, 12, 1-111.
- LARRA, F. et DROZ, B. (1970). - Techniques radioautographiques et leur application à l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. J. Microscopie, 9, 845-880.
- LARSON, B., OWMAN, Ch. and SUNDLER, F. (1966). - Monoaminergic mechanisms in parafollicular cells of the mouse thyroid gland. Endocrinology, 78, 1109-1114.
- LE DOUARIN, N. et LE LIEVRE, Ch. (1970). - Démonstration de l'origine neurale des cellules à calcitonine du corps ultimobranchial chez l'embryon de Poulet. C.R. Acad. Sci. (Paris), 270, 2857-2860.
- LE DOUARIN, N., LE LIEVRE, Ch. et FONTAINE, J. (1972). - Recherches expérimentales sur l'origine embryologique du corps carotidien chez les Oiseaux. C.R. Acad. Sci. (Paris), 275, 583-586.
- LEONARDELLI, J. et HERMAND, E. (1970). - Modifications de la technique de mise en évidence des catécholamines en lumière U.V. sur tissus lyophilisés. Ann. Histochemie, 15, 35-45.
- LERNER, A., CASE, J., TAKAHASHI, Y., LEE, T.H. and MORI, W. (1958). - Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. J. Am. Chem. Soc., 80, 2587.

- LEYDIG, F. (1872). - Die in Deutschland lebenden Arten der Saurier.
Tübingen : M. Laupp'schen Buchhandlung, 262 pages.
- LEYDIG, F. (1890). - Das Parietalorgan der Amphibien und Reptilien.
Abhandl. Senckenb. Nat. Ges., 16, 441-551.
- LOCY, W.A. (1894). - The derivation of the pineal eye. Anat.Anz., 9,
169-180.
- LUFT, J.H. (1961). - Improvements in epoxy resin embedding methods.
J. biophys. biochem. Cytol., 9, 409-414.
- LUTZ, H. et COLLIN, J.P. (1967). - Sur la régression des cellules
photoréceptrices épiphysaires chez la Tortue terrestre : Testudo
hermanni (Gmelin) et la phylogénie des photorécepteurs épiphysaires
chez les Vertébrés. Bull. Soc. Zool. Fr., 92, 797-808.
- LYSER, K.M. (1968). - An electron-microscope study of centrioles in
differentiating motor neuroblasts. J. Embryol. exp. Morph., 20,
343-354.
- MAC DEVITT, D.S. (1972). - Presence of lateral eye lens cristallins
in the median eye of the American Chameleon. Science, 175, 763-764.
- MACHADO, A.B.M., MACHADO, C.R.S. and WRAGG, L.E. (1968). - Catechola-
mines and granular vesicles in adrenergic axons of the developing
pineal body of the rat. Experientia (Basel), 24, 464-465.
- MACHADO, C.R.S., MACHADO, A.B.M. and WRAGG, L.E. (1969). - Circadian
serotonin rhythm control : sympathetic and nonsympathetic path-
ways in rat pineals of different ages. Endocrinology, 85, 846-848.
- MACHADO, C.R.S., WRAGG, L.E. and MACHADO, A.B.M. (1968). - A histo-
chemical study of sympathetic innervation and 5-hydroxytryptamine
in the developing pineal body of the rat. Brain Res., 8, 310-318.
- MACHADO, C.R.S., WRAGG, L.E. and MACHADO, A.B.M. (1969). - Circadian
rhythm of serotonin in the pineal body of immunosympathectomized
immature rats. Science, 164, 442-443.

- MEINIEL, A. (1969a). - Etude préliminaire de l'organe parapinéal de l'ammocète de Lampetra planeri. Arch. Anat. micr. Morph. exp., 58, 219-237.
- MEINIEL, A. (1969b). - Cellules de type photorécepteur dans la rétine dorsale de l'organe parapinéal d'ammocète de Lampetra planeri. C.R. Acad. Sci. (Paris), 268, 2265-2268.
- MEINIEL, A. (1970). - L'organe parapinéal de l'ammocète de Lampetra planeri. Thèse Doctorat 3e cycle, Université de Clermont, n°d'ordre: 177, 1-83.
- MEINIEL, A. (1971). - Etude cytophysiologique de l'organe parapinéal de Lampetra planeri. J. Neuro-Visc.Rel., 32, 157-199.
- MEINIEL, A. (1974). - Differentiation des segments externes des cellules de la lignée sensorielle dans l'épiphyse embryonnaire de Lacerta vivipara J. (Reptiles, Lacertiliens). C.R. Acad. Sci. (Paris), 278, 1389-1392.
- MEINIEL, A. (1975). - Ultrastructure des "photorécepteurs rudimentaires sécrétoires" dans l'épiphyse de l'embryon âgé de Lacerta vivipara J. (Reptile, Lacertilien) et origine des P.R.S. des Sauropsidés. C.R. Acad. Sci. (Paris), 281, 1163-1166.
- MEINIEL, A. (1976a). - L'épiphyse embryonnaire de Lacerta vivipara J.. I. Differentiation des cellules de la lignée sensorielle (=CLS). Le gradient de différenciation morphologique. J. Neural Trans. (sous presse).
- MEINIEL, A. (1976b). - L'épiphyse embryonnaire de Lacerta vivipara J.. II. Etude en microscopie électronique de l'incorporation du 5-hydroxytryptophane-³H (5-HTP-³H) au niveau des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires (=PRS). Le gradient de différenciation biochimique. J. Neural Trans. (sous presse).
- MEINIEL, A. et COLLIN, J.P. (1970). - Monoamines de l'organe pinéal au cours des stades de développement intra-utérins d'un Amniote. Recherches chez Lacerta vivipara (Jacquin), Reptile, Lacertilien. C.R. Acad. Sci. (Paris), 271, 2373-2376.

- MEINIEL, A. et COLLIN, J.P. (1971). - Le complexe pariétal de l'ammocète de Lampetra planeri (Bl.). Identification du ganglion sous-jacent à l'organe parapinéal et relations épithalamiques des organes pinéal et parapinéal. Z.Zellforsch., 117, 354-380.
- MEINIEL, A., COLLIN, J.P. et CALAS, A. (1972). - Incorporation du 5-hydroxytryptophane (5-HTP) dans l'organe pinéal du Lacertilien Lacerta vivipara (J.) : étude par radioautographie à haute résolution. C.R.Acad.Sci. (Paris), 274, 2897-2900.
- MEINIEL, A., COLLIN, J.P. et HARTWIG, H.G. (1973). - Pinéale et troisième oeil de Lacerta vivipara (J.), au cours de la vie embryonnaire et postnatale. Etude cytophysiologique des monoamines en microscopie de fluorescence et en microspectrofluorimétrie. Z. Zellforsch., 144, 89-115.
- MEINIEL, A., COLLIN, J.P. et ROUX, M. (1975). - Pinéale et 3ème oeil de l'embryon de Lacerta vivipara : étude qualitative et quantitative en microscopie photonique, de l'incorporation de 5-hydroxytryptophane-³H, au cours de l'ontogenèse. J. Neural Trans., 36, 249-279.
- MØLLER, M. (1974). The ultrastructure of the human fetal pineal gland. I. Cell types and blood vessels. Cell Tiss. Res., 152, 13-30.
- NILSSON, S.E.G. (1964). - Receptor cell outer segment development and ultrastructure of the disk membranes in the retina of the tadpole (Rana pipiens). J. Ultrastr. Res., 11, 581-620.
- NOWIKOFF, M. (1910). - Untersuchungen über den Bau, die Entwicklung und die Bedeutung des Parietalauges von Saurien. Z. Wiss. Zool., 96, 118-207.
- OKSCHE, A. (1970). - Zur Differenzierung sensorischer und sekretorischer Strukturelemente in Zentralnervensystem. Verh. Deutsch. Zool. Ges., Tag. Gustav Fischer Verlag, 64, 72-79.
- OKSCHE, A. (1971). - Sensory and glandular elements of the pineal organ. In : The pineal organ. Symposium of Ciba Foundation. G.E.W. Wolstenholme and J. Knight, Ed. : London, 127-146.

- OKSCHE, A. und KIRSCHSTEIN, H. (1968). - Unterschiedlicher elektronenmikroskopischer Feinbau der Sinneszellen im ParietalaUGE und im Pinealorgan (Epiphysis cerebri) der Lacertilia. Ein Beitrag zum Epiphysenproblem. Z. Zellforsch., 87, 159-192.
- OKSCHE, A., UECK, M. and RÜDEBERG, C. (1971). - Comparative ultrastructural studies of sensory and secretory elements in pineal organs. In : Subcellular organization and function in endocrine tissues (eds. H. Heller and K. Lederis). Memoirs of the Society for Endocrinol. Cambridge University Press, 19, 7-25.
- OKSCHE, A. und VAUPEL-VON HARNACK, M. (1963). - Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Epiphysis cerebri von Rana esculenta Z. Zellforsch., 59, 582-614.
- OKSCHE, A. und VAUPEL-VON HARNACK, M. (1965a). - Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Nervenbahnen des Pinealkomplexes von Rana esculenta L. Z. Zellforsch., 68, 389-426.
- OKSCHE, A. und VAUPEL-VON HARNACK, M. (1965b). - Über rudimentäre Sinnes-zellstrukturen im Pinealorgan des Hühnchens. Naturwissensch., 24, 662-663.
- OWMAN, Ch. and RÜDEBERG, C. (1970). - Light, fluorescence and electron microscopic studies on the pineal organ of the pike, Esox lucius L., with special regard to 5-hydroxytryptamine. Z. Zellforsch., 107, 522-550.
- OWMAN, Ch., RÜDEBERG, C. und UECK, M. (1970). - Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis biogener Monoamine in der Epiphysis cerebri von Rana esculenta und Rana pipiens. Z. Zellforsch., 111, 550-558.
- PASTEELS, J.J. (1970). - Développement embryonnaire. In : P.P. GRASSE, Traité de Zoologie, Masson et Cie: Paris, vol. 14, Fasc. III, 893-971.
- PEARSE, A.G.E. (1960). - Histochemistry, second ed. London : J. and A. Churchill.

- PEARSE, A.G.E. (1969). - The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone - producing cells of the APUD series, and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. J. Histochem. Cytochem., 17, 303-313.
- PEARSE, A.G.E. and POLAK, J.M. (1971). - Cytochemical evidence for the neural crest origin of mammalian ultimobranhial C cells. Histochemie, 27, 96-102.
- PEARSE, A.G.E., POLAK, J.M., ROST, F.W.D., FONTAINE, J., LE LIEVRE, C. and LE DOUARIN, N. (1973). - Démonstration of the neural crest origin of type I (APUD) cells in the avian carotid body, using a cytochemical marker system. Histochemie, 34, 191-203.
- PETIT, A. (1967). - Nouvelles observations sur la morphogénèse et l'histogénèse du complexe épiphysaire des Lacertiliens. Arch. Anat. Embryol. exp. (Strasbourg), 50, 228-257.
- PETIT, A. (1968a). - Embryogénèse de l'épiphyse et de l'organe sous-commissural de la Couleuvre à collier Tropidonotus natrix L. Arch. Anat. Embryol. exp. (Strasbourg), 52, 1-25.
- PETIT, A. (1968b). - Ultrastructure de la rétine de l'oeil pariétal d'un Lacertilien, Anguis fragilis. Z. Zellforsch., 92, 70-93.
- PETIT, A. (1969). - Ultrastructure, innervation et fonction de l'épiphyse de l'Orvet Anguis fragilis. Z. Zellforsch., 96, 437-465.
- PEVET, P. et COLLIN, J.P. (1976). - Lignée des cellules sensorielles dans l'organe pinéal. Homologie entre les photorécepteurs des Vertébrés non mammaliens et les pinéaloocytes des Mammifères. J. Ultrastr. Res. (sous presse).
- PORTE, A. (1966). - Observations ultrastructurales sur le développement de l'oeil de Poulet. Thèse, Faculté des Sciences, Strasbourg.
- PREISLER, O. (1942). - Zur Kenntnis der Entwicklung des Parietalauges und des Feinbaues der Epiphyse der Reptilien. Z. Zellforsch., 32, 209-216.

- QUAY, W.B. (1965a). - Indole derivatives of pineal and related neural and retinal tissues. Pharmacol. Rev., 17, 321-345.
- QUAY, W.B. (1965b). - Retinal and pineal hydroxyindole-O-methyl transferase activity in vertebrates. Life Sci., 4, 983-991.
- QUAY, W.B. (1969). - Catecholamines and Tryptamines. J. Neural Trans., Suppl. 9, 212-235.
- QUAY, W.B. (1971). - Factors in the measurement of pineal acetylserotonin methyltransferase activity in the lizard Sceloporus occidentalis. Gen. comp. Endocr., 17, 220-226.
- QUAY, W.B. (1974). - Pineal chemistry. American lectures series, c.c. Thomas Pub. : Springfield, USA.
- QUAY, W.B. and HALEVY, A. (1962). - Experimental modifications of the rat pineal content of serotonin and related indoleamines. Physiol. Zool., 35, 1-7.
- QUAY, W.B., JONGKIND, J.F. and ARIËNS KAPPERS, J. (1967). - Localizations and experimental changes in monoamines of the reptilian pineal complex studied by fluorescence histochemistry. Anat. Rec., 157, 304-305.
- QUAY, W.B. and WILHOFT, D.C. (1964). - Comparative and regional differences in serotonin content of reptilian brains. J. Neurochemistry, 11, 805-811.
- RALPH, Ch.L. (1975). - The pineal complex : a retrospective view. Amer. Zool., 15 (Suppl. 1), 105-116.
- RAYNAUD, A. (1959). - Une technique permettant d'obtenir le développement des oeufs d'Orvet (Anguis fragilis L.) hors de l'organisme maternel. C.R. Acad. Sci. (Paris), 249, 1715-1717.
- REYNOLDS, E.S. (1963). - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol., 17, 208-212.

- RITZEN, M. (1967). - Cytochemical identification and quantitation of biogenic monoamines. A microspectrofluorometric and autoradiographic study. M.D. thesis, Stockholm.
- ROMIJN, H.J. (1973). - Structure and innervation of the pineal gland of the rabbit, Oryctolagus cuniculus (L.). II. An electron microscopic investigation of the pinealocytes. Z. Zellforsch., 141, 545-560.
- ROSENBLUTH, J. (1962). - Subsurface cisterns and their relationship to the neuronal plasma membrane. J. Cell Biol., 13, 405-421.
- ROUX, M., RICHOUX, J.P. et DUSSART, G. (1974). - Etude ultrastructurale de l'épiphyse du lérot (Eliomys quercinus). Bull. Ass. Anat., 58, 1031-1042.
- RÜDEBERG, C. (1966). - Electron microscopical observations on the pineal organ of the teleosts Mugil auratus (Risso) and Uranoscopus Scaber (Linné). Publ. Staz. Zool. Napoli, 35, 47-60.
- RÜDEBERG, C. (1968). - Structure of the pineal organ of the Sardine, Sardina pilchardus sardina (Risso) and some further remarks on the pineal organ of Mugil spp. Z. Zellforsch., 84, 219-237.
- RÜDEBERG, 1969. - Light and electron microscopic studies on the pineal organ of the dogfish, Scyliorhinus canicula L. Z. Zellforsch., 96, 548-581.
- SCHMIDT, W.J. (1909). - Beiträge zur Kenntnis der Parietalorgane der Saurier. Z. Wiss. Zool., 92, 359-426.
- SNYDER, S.H. (1968). - Development of enzyme activities and a circadian rhythm in pineal gland serotonin : evidence for a nonretinal pathway of light to the pineal gland of newborn rats. Adv. Pharmacol. (U.S.A.), 6A, 301-305.
- SPEMANN, H. (1912). - Über die Entwicklung umgedrehter Hirnteile bei Amphibienembryonen. Zool. Jahrbuch, 15, 1-48.
- SPENCER, H.B. (1886). - On the presence and structure of the pineal eye in Lacertilia. Quart. J. Micr. Sci., 27, 165-238.

- STEYN, W. (1957). - The morphogenesis and some aspects of the epiphyseal complex in lizards. J. Comp. Neurol., 107, 227-252.
- STRAHL, H. (1884). - Das Leydig'sche Organ bei Eidechsen. Marburger Sitzungsberichte, Mai 1884, 81-83.
- STRAHL, H. und MARTIN, E. (1888). - Die Entwicklung des Parietalauges bei Anquis fragilis und Lacerta vivipara. Arch. Anat. Physiol., Anat. Abt., 146-163.
- STUDNIČKA, F.K. (1905). - Die Parietalorgane. Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere. Hrsg. A. OPPEL. Jena : Gustav Fischer, 5, 1-254.
- TAXI, J. et DROZ, B. (1966a). - Etude de l'incorporation de noradrénaline-³H (NA-³H) et de 5-hydroxytryptophane-³H (5-HTP-³H) dans les fibres nerveuses du canal déférent et de l'intestin. C.R.Acad. Sci. (Paris), 263, 1237-1240.
- TAXI, J. et DROZ, B. (1966b). - Etude de l'incorporation de noradrénaline-³H (NA-³H) et de 5-hydroxytryptophane-³H (5-HTP-³H) dans l'épiphyse et le ganglion cervical supérieur. C.R.Acad.Sci. (Paris) 263, 1326-1329.
- TJÄLVE, H. (1971). - Catechol-and indolamines in some endocrine cells systems. An autoradiographical, histochemical and radioimmunological study. Acta Physiol. Scand., Suppl. 360.
- TROST, E. (1952). - Untersuchungen über die frühe Entwicklung des Parietalauges und der Epiphyse von Anquis fragilis, Chalcides ocellatus und Tropidonotus natrix. Zool. Anz., 148, 58-71.
- TROST, E. (1953). - Die Entwicklung, Histogenese und Histologie der Epiphyse, der Paraphyse, des Velum transversum, des Dorsalsackes und des subcommissuralen Organs bei Anquis fragilis, Chalcides ocellatus und Natrix natrix. Acta Anat., 18, 326-342.
- UECK, M. (1968). - Ultrastruktur des pinealen Sinnesapparates bei einigen Pipidae und Discoglossidae. Z. Zellforsch., 92, 452-476.

- UECK, M. (1970). - Weitere Untersuchungen zur Feinstruktur und Innervation des Pinealorgans von Passer domesticus L. Z. Zellforsch., 105, 276-302.
- UECK, M. (1973). - Fluoreszenzmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Pinealorgan verschiedener Vogelarten. Z. Zellforsch., 137, 37-62.
- VAN DE KAMER, J.C. (1949). - Over de ontwikkeling, de determinatie en de betekenis van de epiphyse en de paraphyse van de amphiënen. Thesis. Faculty of Sciences. Arnhem, Van der Wiel.
- VIVIEN, J.H. (1964). - Ultrastructure des constituants de l'épiphyse de Tropidonotus natrix L. C.R.Acad.Sci. (Paris), 258, 3370-3372.
- VIVIEN, J.H. (1965). - Signes de stimulation des activités sécrétoires des pinéaloctes chez la Couleuvre Tropidonotus natrix (L.) traitée par des principes gonadotropes. C.R. Acad. Sci. (Paris), 260, 5370-5372.
- VIVIEN, J.H. et ROELS, B. (1968). - Ultrastructures synaptiques dans l'épiphyse des Chéloniens. Présence de rubans synaptiques au niveau des articulations entre cellules pseudosensorielles et terminaisons nerveuses dans l'épiphyse de Pseudemys scripta elegans et Pseudemys picta. C.R.Acad.Sci. (Paris), 266, 600-603.
- VIVIEN-ROELS, B. (1969). - Etude structurale et ultrastructurale de l'épiphyse d'un Reptile : Pseudemys scripta elegans. Z. Zellforsch., 94, 352-390.
- VIVIEN-ROELS, B. (1970). - Structure, innervation et fonction de l'épiphyse des Chéloniens. Z. Zellforsch., 104, 429-448.
- VIVIEN-ROELS, B. et PETIT, A. (1973). - Embryogenèse du complexe épiphysaire chez la Tortue mauresque Testudo graeca L. Ann. Embryol. Morph., 6, 151-168.

- VIVIEN-ROELS, B., PETIT, A. et LICHTÉ, C. (1971). - Dosage spectrofluorimétrique de la sérotonine épiphysaire chez les Reptiles. Etude des variations du taux de sérotonine en fonction de la période d'éclairement. C.R.Acad.Sci. (Paris), 272, 459-461.
- VOLLRATH, L. and HUSS, H. (1973). - The synaptic ribbons of the guinea-pig pineal gland under normal and experimental conditions. Z. Zellforsch., 139, 417-429.
- VON HAFFNER, (1953). - Untersuchungen über die Entwicklung des Parietalorgans und des Parietalnerven von Lacerta vivipara und das Problem der Organe der Parietalregion. Z. Wiss. Zool., 157, 1-34.
- WAINWRIGHT, S.D. (1973). - Course of the increase in hydroxyindole-O-methyltransferase activity in the pineal gland of the chick embryo and young chick. J. Neurochem., 22, 193-196.
- WAINWRIGHT, S.D. (1974). - Development of hydroxytryptophan decarboxylase activity in the pineal gland, cerebral hemispheres, and cerebellum of the chick embryo and young chick. Can. J. Biochem., 52, 149-154.
- WARTENBERG, H. und BAUMGARTEN, H.G. (1968). - Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Frage der photosensorischen und sekretorischen Funktion des Pinealorgans von Lacerta viridis und L. muralis. Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 127- 99-120.
- WARTENBERG, H. und BAUMGARTEN, H.G. (1969a). - Über die elektronenmikroskopische Identifizierung von noradrenergen Nervenfasern durch 5-Hydroxydopamin und 5-Hydroxydopa im Pinealorgan der Eidechse (Lacerta muralis). Z. Zellforsch., 94, 252-260.
- WARTENBERG, H. und BAUMGARTEN, H.G. (1969b). - Untersuchungen zur fluoreszenz-und elektronenmikroskopischen Darstellung von 5-Hydroxytryptamin (5-HT) im Pineal-Organ von Lacerta viridis und L. muralis. Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 128, 185-210.

- WATSON, M. (1958). - Staining of tissue for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 475-478.
- WILHOFT, D.C. and QUAY, W.B. (1965). - Effects of temperature on brain contents of 5-hydroxytryptamine and related indoles in a lizard, Sceloporus occidentalis. Comp. Biochem. Physiol., 15, 325-338.
- WOLFE, D.E. (1965). - The epiphyseal cell : an electron-microscopic study of its intercellular relationships and intracellular morphology in the pineal body of the albino rat. Progr. Brain Res., 10, 332-376.
- WOLFE, D.E., POTTER, L.T., RICHARDSON, K.C. and AXELROD, J. (1962). - Localizing tritiated norepinephrine in sympathetic axons by electron microscopic autoradiography. Science, 138, 440-442.
- WOLSTENHOLME, G.E.W. and KNIGHT, J. (1971). - The pineal gland. J. and A. Churchill, Pub., London.
- WRAGG, L.E., MACHADO, C.R.S., SNYDER, S.H. and AXELROD, J. (1967). - Anterior chamber pineal transplants : their metabolic activity and independence of environmental lighting. Life Sci., 6, 31-38.
- WURTMAN, R.J. and AXELROD, J. (1963). - A sensitive and specific assay for the estimation of monoamine oxidase. Biochem. Pharmac., 12, 1439-1440.
- WURTMAN, R.J., AXELROD, J. and KELLY, D.E. (1968). - The pineal. Academic Press. New-York and London, 1-199.
- YOUNG, R.W. (1967). - The renewal of photoreceptor cell outer segments. J. Cell Biol., 33, 66-72.
- YOUNG, R.W. (1971). - The renewal of rod and cone outer segments in the Rhesus Monkey. J. Cell Biol., 49, 303-318.
- YOUNG, R.W. and DROZ, B. (1968). - The renewal of protein in retinal rods and cones. J. Cell Biol., 39, 169-184.
- ZIMMERMAN, B.L. and TSO, M.O.M. (1975). - Morphologic evidence of photoreceptor differentiation of pinealocytes in the neonatal rat. J. Cell Biol., 66, 60-75.

ZWEIG, M., SNYDER, S.H. and AXELROD, J. (1966). - Evidence for a nonretinal pathway of light to the pineal gland of newborn rats. Proc. Natl Acad. Sci., U.S.A., 56, 515-520.

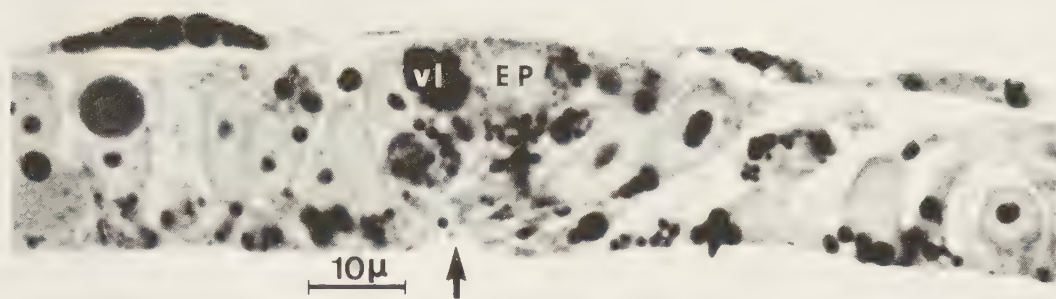
PLANCHES

Planche I

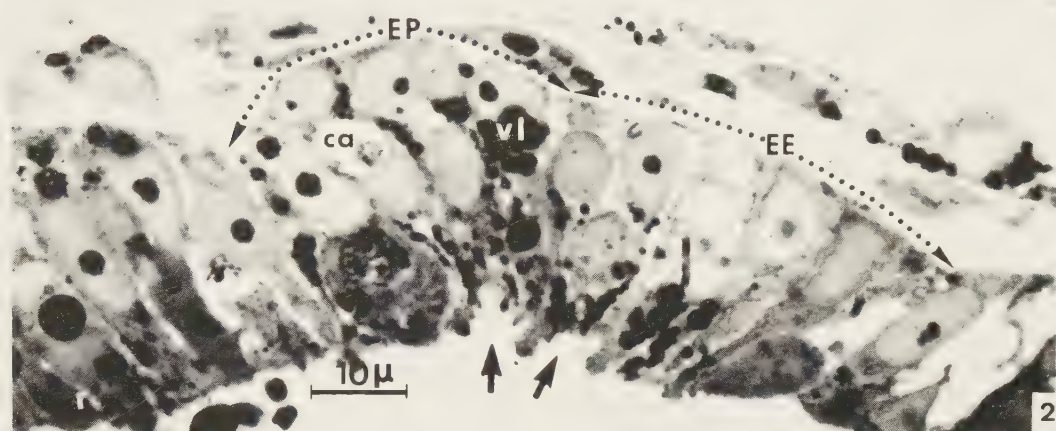
Mise en place et évolution des ébauches pariétales.

- Fig. 1. - Stade 27 : évagination (flèche) de l'ébauche de l'oeil pariétal (EP). A ce niveau, les cellules sont riches en inclusions lipidiques (vl).
- Fig. 2. - Stade 28 : deux évaginations (flèches) sont nettement identifiées et correspondent aux ébauches de l'oeil pariétal (EP) et de l'épiphyse (EE) ; ca : corps autophagiques ; vl : vacuoles lipidiques.
- Fig. 3. - Stade 29 : l'ébauche de l'oeil pariétal (EP) est bien développée. L'ébauche épiphysaire (EE) continue à s'évagner. Le toit diencéphalique (Td) s'infléchit jusqu'à l'ébauche de la parapyse (Pa).
- Fig. 4. - Stade 30 : l'ébauche de l'oeil pariétal (EP) repose maintenant sur le toit diencéphalique (Td). L'ébauche épiphysaire (EE) poursuit sa croissance.

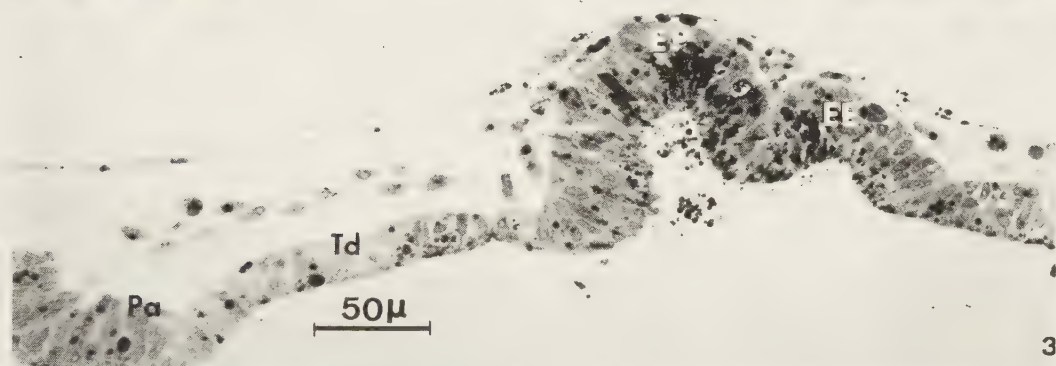
Coloration au bleu de toluidine.



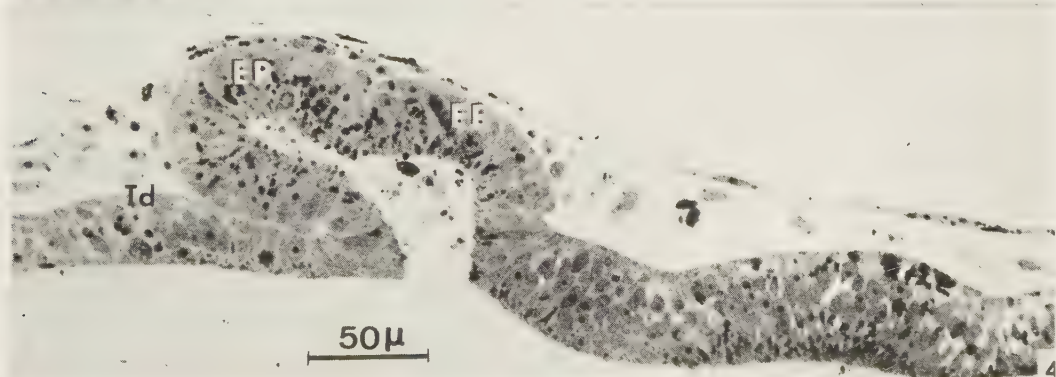
1



2



3



4

Planche II

Mise en place et évolution des ébauches pariétales.

Fig. 1 et 2. - Stade 30 : l'ébauche de l'oeil pariétal (EP, Fig. 1) et l'ébauche épiphysaire (EE, Fig. 2) sont toutes les deux constituées de deux territoires séparés par un sillon transversal (flèches).

Fig. 3. - Stade 31 : l'oeil pariétal (OP) est individualisé. Un pédoncule (flèche) le relie au toit diencéphalique (Td) sous-jacent et marque la mise en place du nerf pariétal. L'épiphyse (E) est inclinée rostralement.

Fig. 4. - Stade 31 : fort grandissement au niveau de la connexion qui s'établit entre l'oeil pariétal (OP) et le toit diencéphalique (Td).

Fig. 5. - Stade 32-33 : l'oeil pariétal (OP) a migré dorsalement. L'épiphyse (E) s'est redressée ; ch : commissure habénulaire ; cp : commissure postérieure.

Fig. 6. - Stade 34-35 : l'oeil pariétal (OP) est en position tout à fait dorsale par rapport à l'épiphyse (E). Cette dernière est reliée au diencéphale par un épais pédoncule (T). Des procès cellulaires (flèches) sont visibles dans la lumière épiphysaire. Les commissures habénulaire (ch) et postérieure (cp) sont bien différenciées.

Coloration au bleu de toluidine.

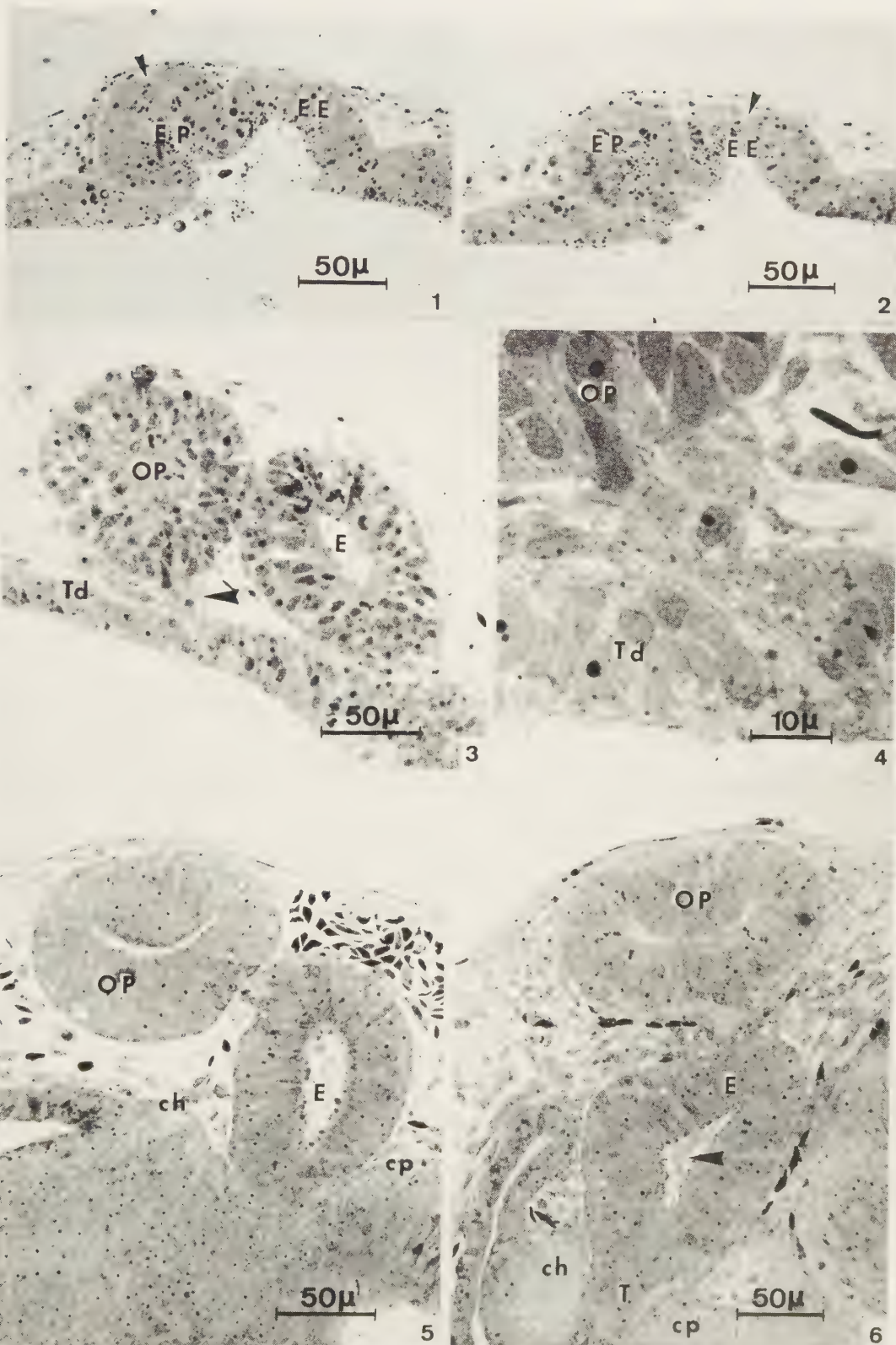


Planche III

Zones de prolifération cellulaire au niveau des ébauches pariétales.

- Fig. 1, 2 et 3. - Stade 29 : dans l'ébauche de l'oeil pariétal (EP), les noyaux ayant incorporé la thymidine-³H sont nombreux et dispersés dans toute l'ébauche. Quelques cellules en division sont visualisées dans la partie rostrale de l'ébauche épiphysaire (EE). Au niveau de l'épithélium épendymaire, l'activité mitotique est intense dans les régions latérales et caudales (flèches) contiguës aux ébauches pariétales. Remarquer que dans la zone située rostralement par rapport à l'ébauche de l'oeil pariétal, les noyaux des cellules de l'épithélium épendymaire n'incorporent pas la thymidine-³H.
- Fig. 4 et 5. - Stade 31 : dans l'oeil pariétal (OP), les cellules en division sont nombreuses et n'ont pas de localisation préférentielle. Les zones de prolifération cellulaire épiphysaires sont essentiellement basales ; elles appartiennent à l'épiphyse proximale (Ep) et à l'épithélium épendymaire (Ee) sous-jacent.
- Fig. 6 et 7. - Stade 35 : quelques mitoses affectent encore les cellules de la rétine (Rt, Fig. 6) et de la pellucide (Pel, Fig. 7) de l'oeil pariétal (OP). Sur la Fig. 6, noter l'émergence du nerf pariétal (Tp) et la connexion qui subsiste entre l'oeil et l'épiphyse (flèche).
- Fig. 8. - Stade 35 : quelques noyaux sont marqués dans l'épiphyse distale (Ed) et moyenne (Em). Néanmoins, c'est dans la région proximale épiphysaire (Ep) et dans le pédoncule épiphysaire (T) que l'activité mitotique est la plus intense.

Exposition 21 jours ; coloration au bleu de toluidine.

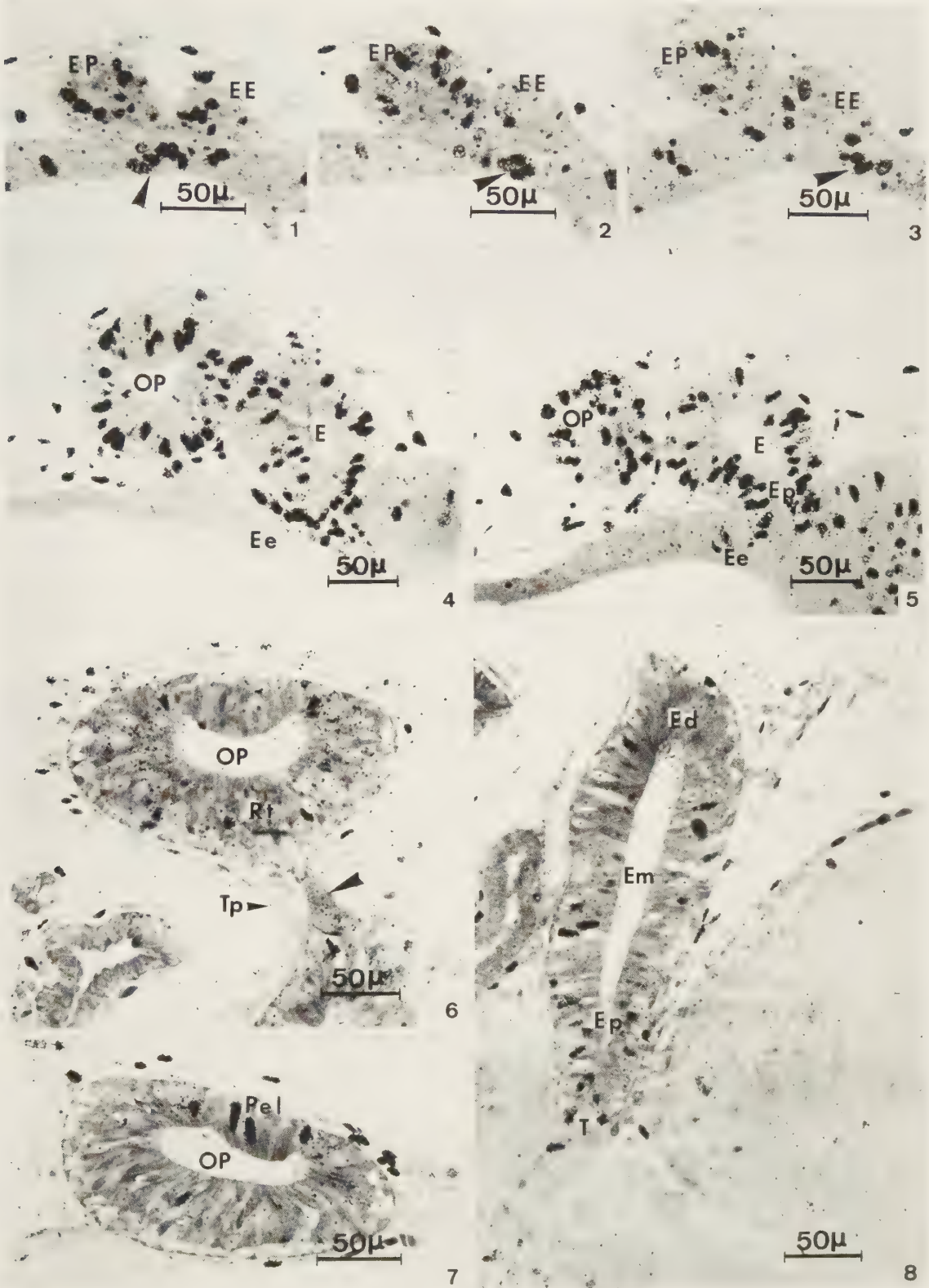


Planche IV

Histogenèse de la rétine de l'oeil pariétal.

- Fig. 1. - Stade 29 : deux types cellulaires sont reconnus avec certitude : les futures cellules photoréceptrices (P) et les cellules interstitielles de type épendymaire (CI). Ces cellules sont riches en inclusions lipidiques (vl) ; CG : neuroblaste ?
- Fig. 2. - Stade 30 : les photorécepteurs (P) prennent une forme fuselée caractéristique. Les cellules interstitielles (CI) présentent une affinité tinctoriale plus faible au bleu de toluidine que les photorécepteurs. Les inclusions lipidiques sont toujours bien représentées dans les deux types cellulaires ; CG : neuroblaste ?
- Fig. 3. - Stade 32-33 : des pigments (Pi) apparaissent dans les cellules interstitielles de type épendymaire, essentiellement dans leur région distale. Des neurones sensoriels (CG) et des faisceaux de fibres nerveuses (fn) sont identifiés à la base de la rétine (Rt).
- Fig. 4. - Stade 40 : les trois types cellulaires qui constituent la rétine (Rt) sont bien différenciés. Les cellules interstitielles de type épendymaire (CI) présentent maintenant une affinité tinctoriale plus forte au bleu de toluidine que les photorécepteurs. Elles sont riches en pigments (Pi). Les photorécepteurs (P) possèdent des ellipsoïdes (El) qui font nettement saillie dans la lumière (L). Les neurones sensoriels (CG) sont en position basale dans l'épithélium ; Pel : Pellucide.

Coloration au bleu de toluidine ; grandissement identique pour toutes les figures.

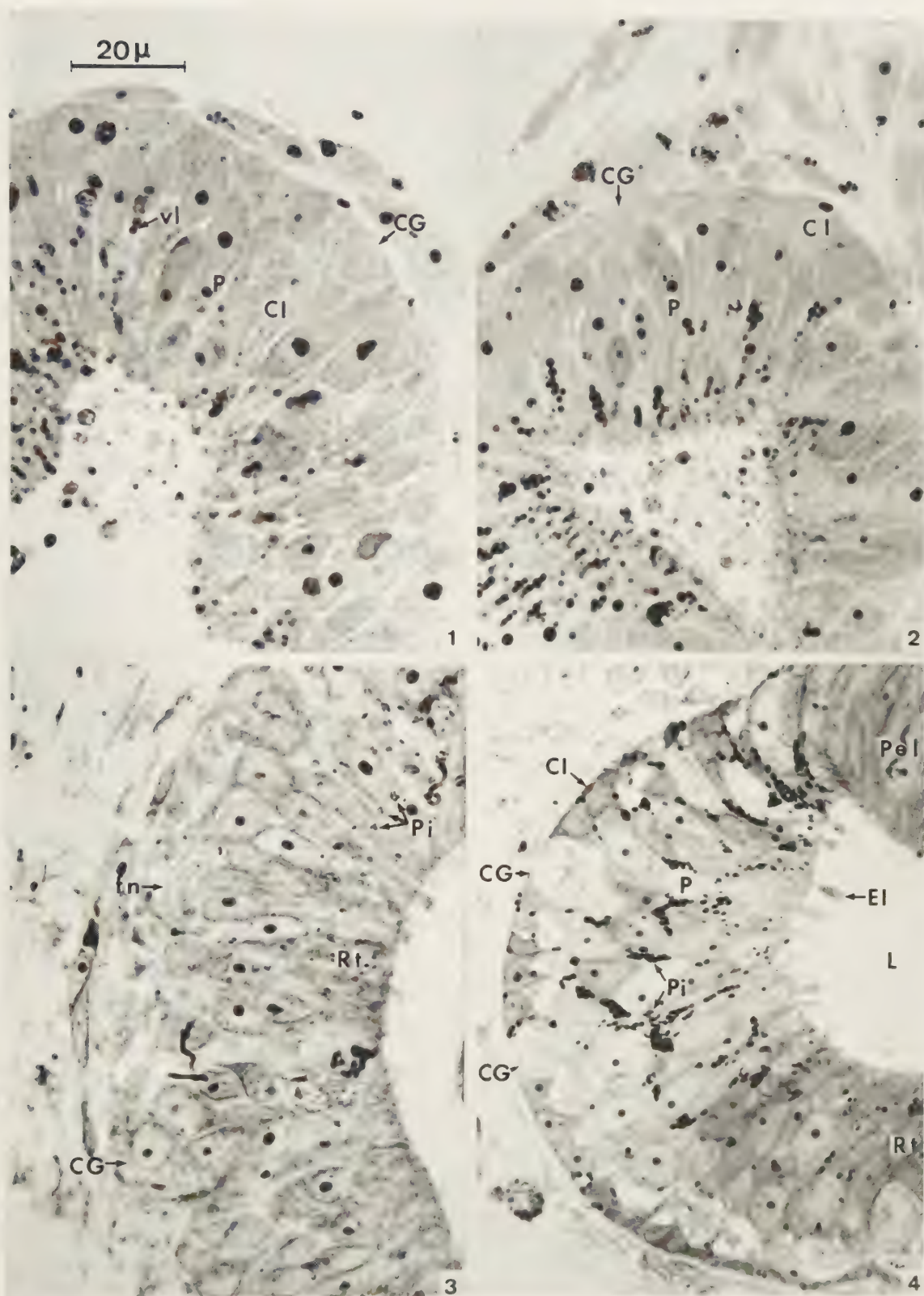


Planche V

Histogenèse de l'épiphyse.

- Fig. 1. - Stade 30 : deux types cellulaires sont identifiés ; les cellules de la lignée sensorielle (CLS) et les cellules interstitielles de type épendymaire (CI). Ces cellules sont riches en inclusions lipidiques (vl).
- Fig. 2. - Stade 31 : dans la région distale de l'épiphyse, les ellipsoïdes (flèche) des cellules de la lignée sensorielle (CLS) font maintenant saillie dans la lumière (L). Des corps autophagiques (ca) se rencontrent fréquemment dans les cellules interstitielles de type épendymaire (CI) et dans les CLS.
- Fig. 3. - Stade 32-33 : certaines cellules, en position basale dans l'épithélium, pourraient correspondre à des neuroblastes (CG).
- Fig. 4. - Stade 34-35 : l'épithélium épiphysaire est constitué de trois types cellulaires comprenant des cellules interstitielles de type épendymaire (CI), des cellules de la lignée sensorielle (CLS) et des neurones sensoriels (CG).

Coloration au bleu de toluidine ; grandissement identique pour toutes les figures.

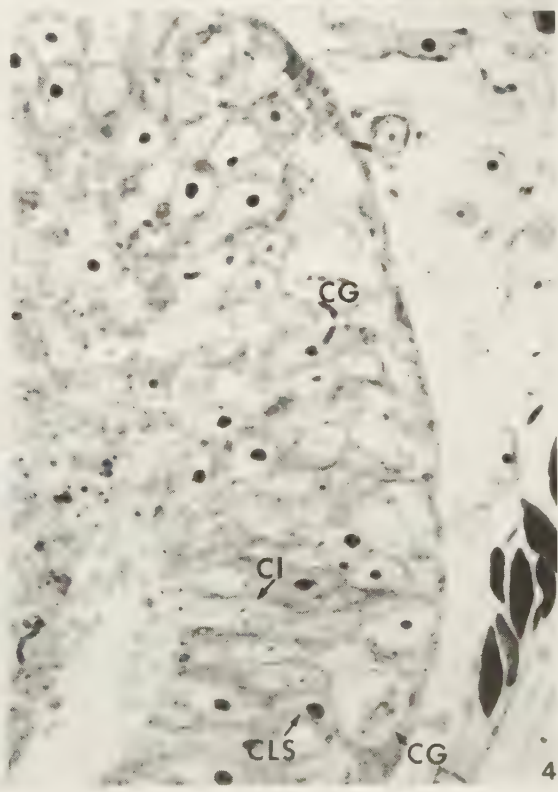
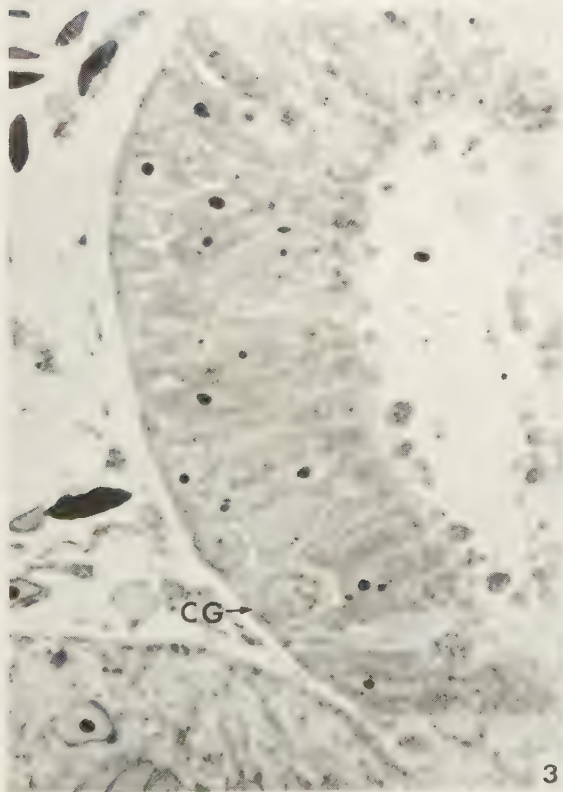
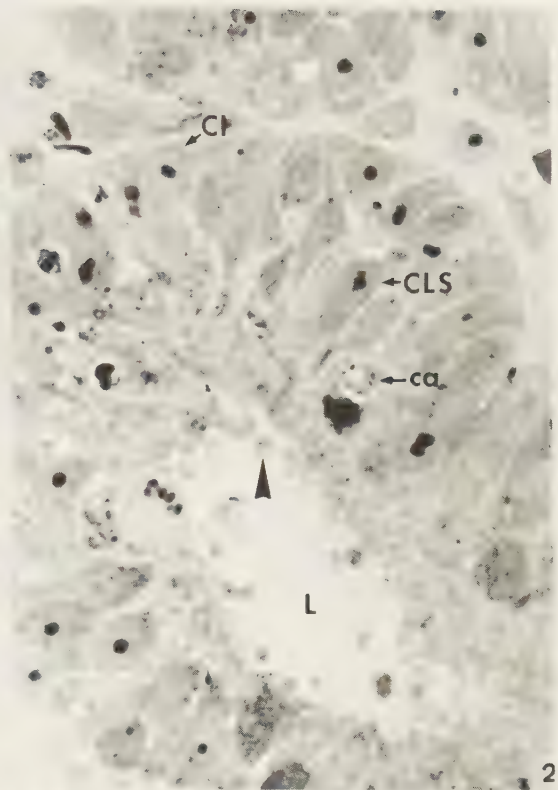
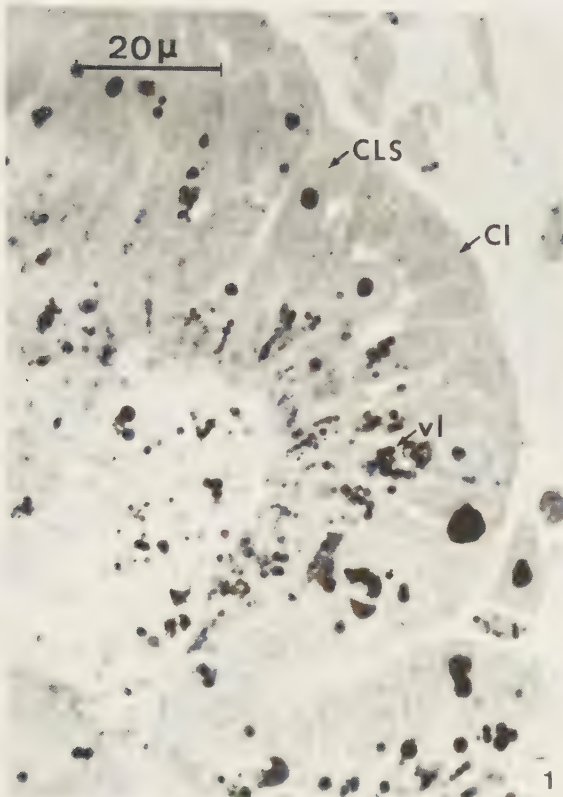


Planche VI

Aspects histologiques de l'épiphyse en fin d'embryogenèse.

Fig. 1. - Stade 40 : coupe longitudinale tangentielle passant par le tractus pinéal (T). Remarquer la faible affinité tinctoriale au bleu de toluidine des neurones sensoriels (CG) ; ch : commissure habénulaire ; cp : commissure postérieure.

Fig. 2. - Stade 36 : coupe transversale dans l'épiphyse distale. La lumière (L) contient de nombreuses sections d'ellipsoïdes. Le tractus pariétal (Tp) est en position rostrale par rapport à l'épiphyse.

Fig. 3. - Stade 40 : colonie de neurones sensoriels (CG) à la base de l'épithélium.

Fig. 4. - Stade 40 : neurones sensoriels dont l'un (CG) présente 2 cônes d'émergence ; El : ellipsoïdes des cellules de la lignée sensorielle (CLS) ; flèche : article externe ; CI : cellules interstitielles de type épendymaire.

Fig. 5. - Stade 40 : neurone sensoriel (CG) montrant un prolongement axonique qui rejoint un faisceau d'axones nus intra-épithéliaux (fn).

Coloration au bleu de toluidine.

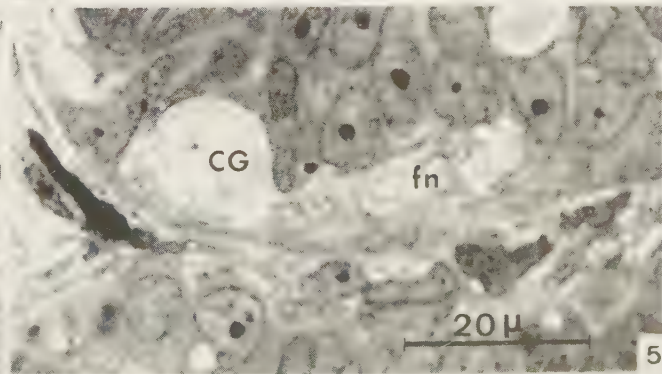
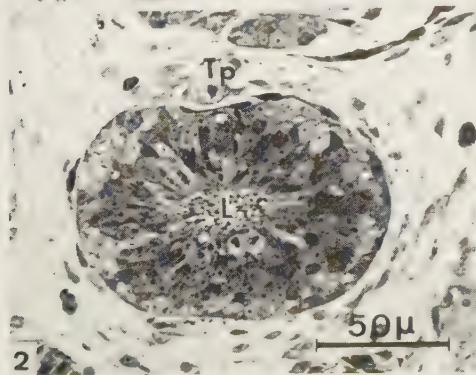
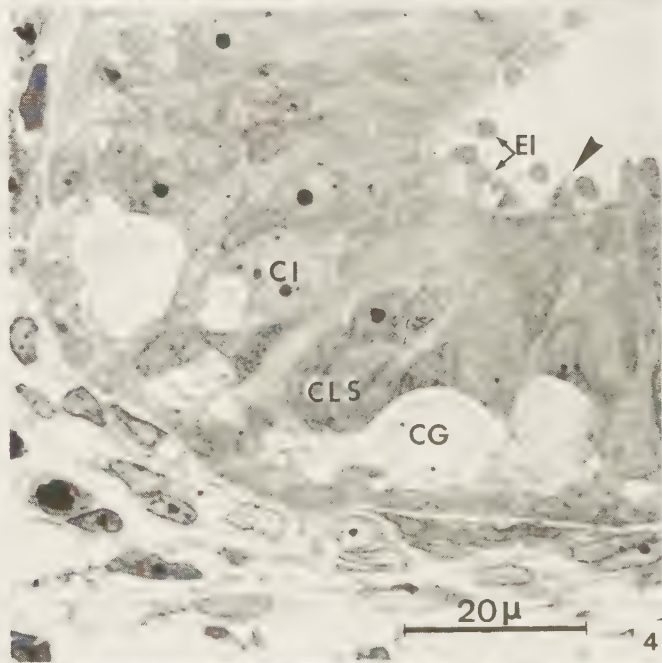
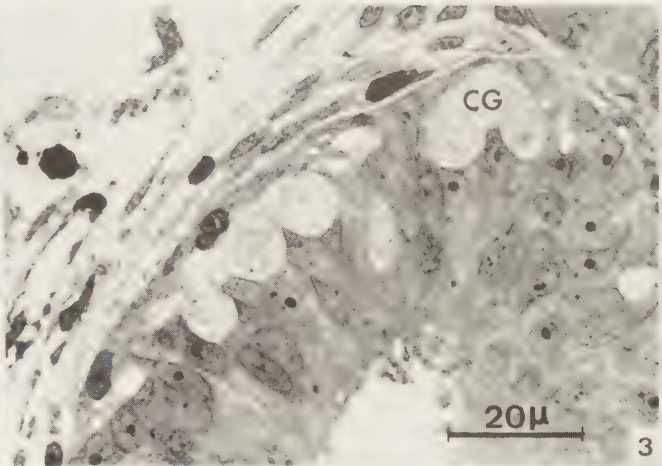


Planche VII

Différenciation des cellules interstitielles de type épendymaire.

Fig. 1. - Stade 32 : appareil de Golgi d'une cellule interstitielle d'où dérivent des vésicules qui se chargent d'un matériel pré-pigmentaire (flèches).

Fig. 2. - Stade 32 : fort grandissement des pré-pigments.

Fig. 3. - Stade 32 : corps autophagiques (ca) dans lesquels on reconnaît encore des inclusions lipidiques (vl) et des mitochondries (m) en voie de dégénérescence.

Fig. 4. - Stade 39 : en bordure de la lumière épiphysaire (L), les cellules interstitielles (CI) sont pourvues de microvillosités (mv) et de cils (c). Leur cytoplasme, moins dense que celui des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires (PRS) renferme, entre autres, des pigments (Pi) et de nombreuses inclusions lipidiques (vl).

Fig. 5. - Stade 39 : fort grandissement des pigments.

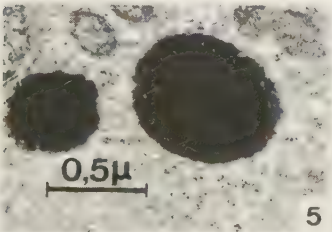
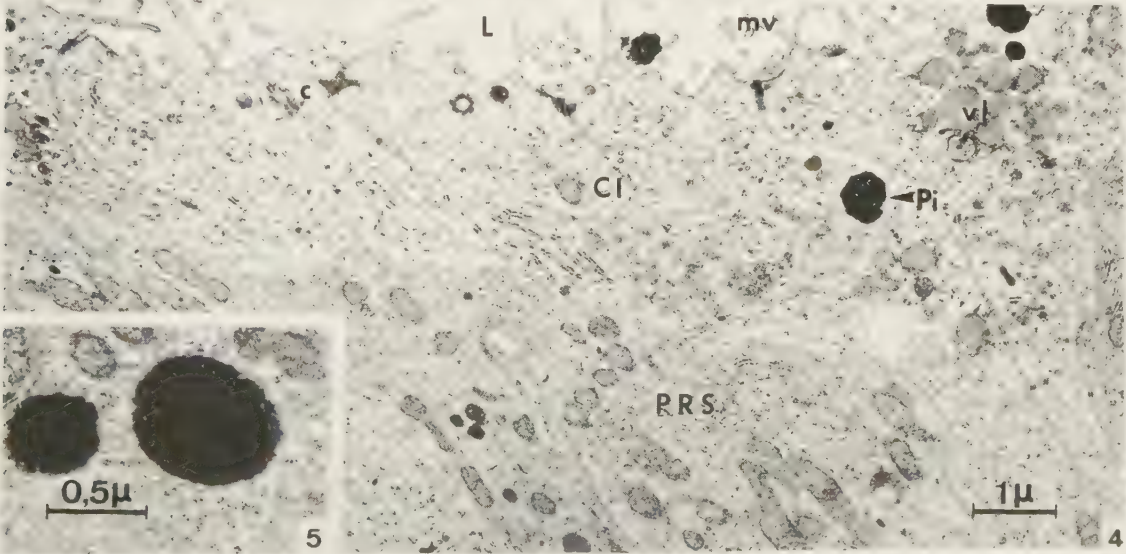
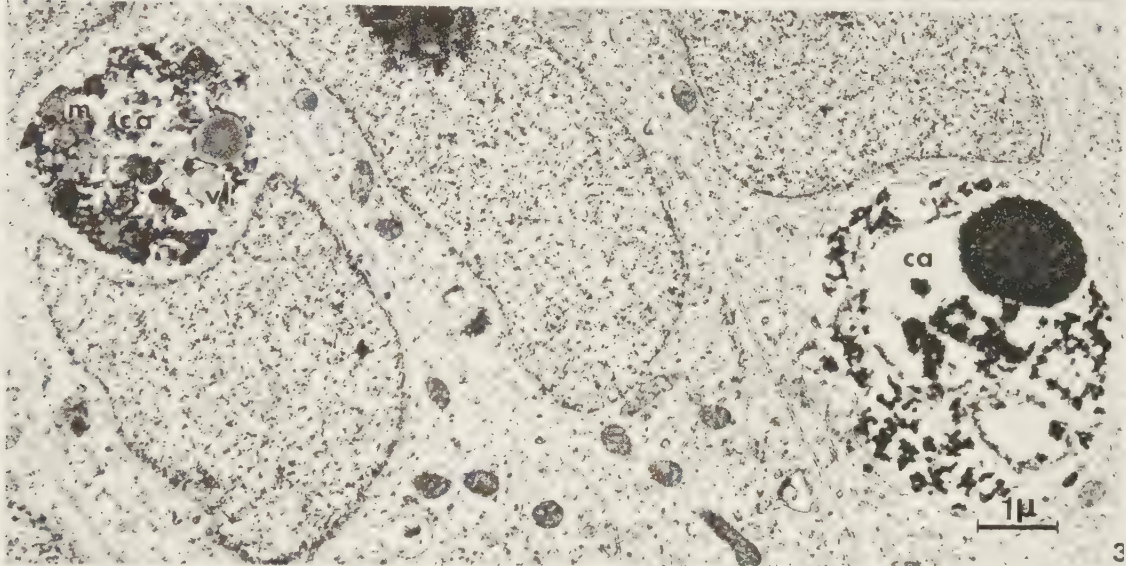
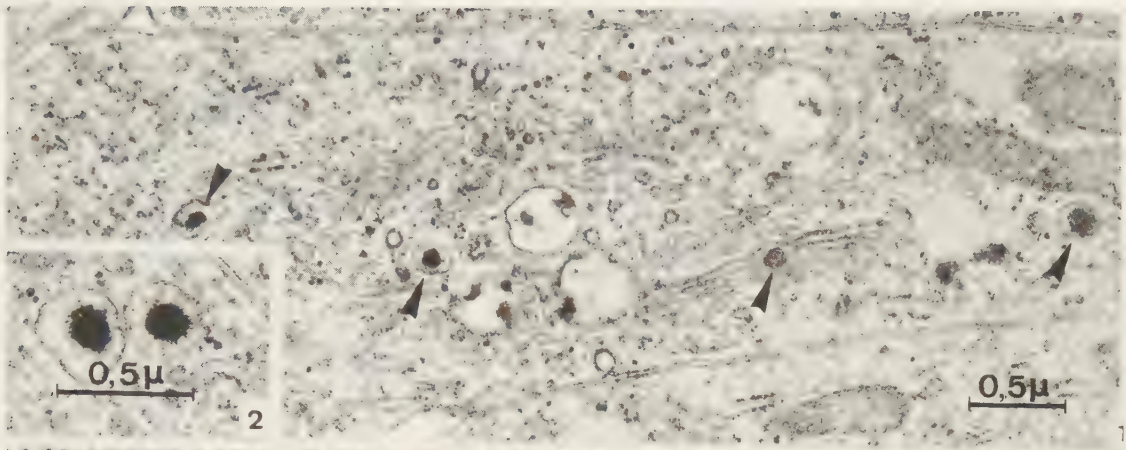


Planche VIII

Evolution des segments externes du stade 30 au stade 39 de l'embryogenèse

- Fig. 1. - Stade 30 : le segment externe (Se) est encore très court ;
Dp : diplosome.
- Fig. 2. - Stade 32 : le segment externe (Se) se présente sous l'aspect
d'un "cil" ; Cd : centriole distal.
- Fig. 3. - Stade 36 : les doublets de tubules (dt) s'évasent dans la
massue ciliaire ; Se : segment externe.
- Fig. 4. - Stade 37 : les contours du segment externe (Se) deviennent
irréguliers.
- Fig. 5. - Stade 38 : deux évaginations basales de la membrane
plasmiques délimitent un disque (d) ; Se : segment externe.
- Fig. 6. - Stade 39 : le nombre de disques (d) augmente à la base du
segment externe (Se). Noter également la présence de corps
multivésiculaires (cm) dans la région distale de l'article externe.

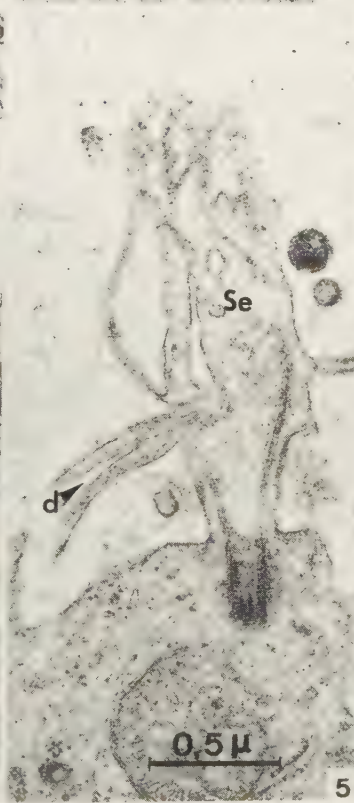
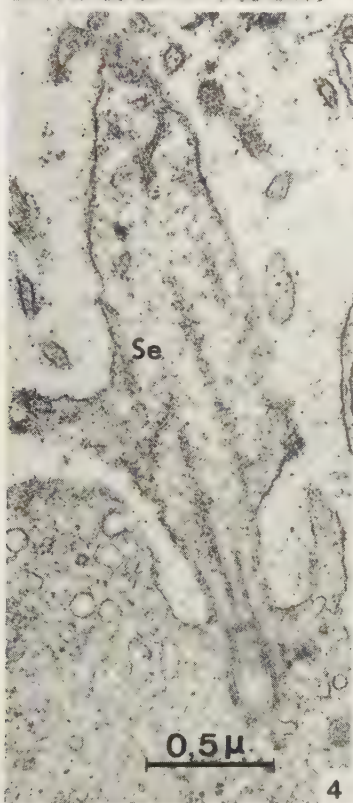
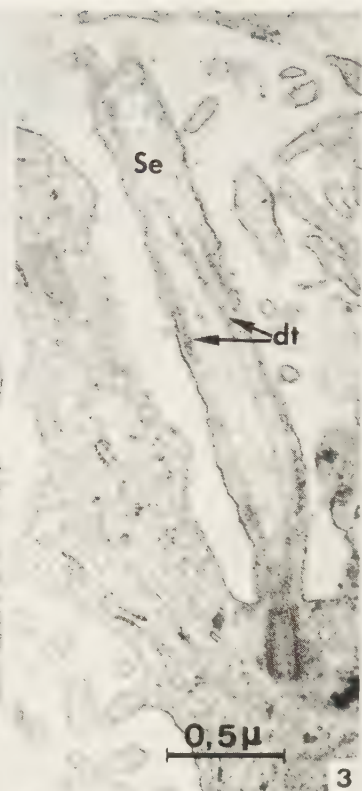
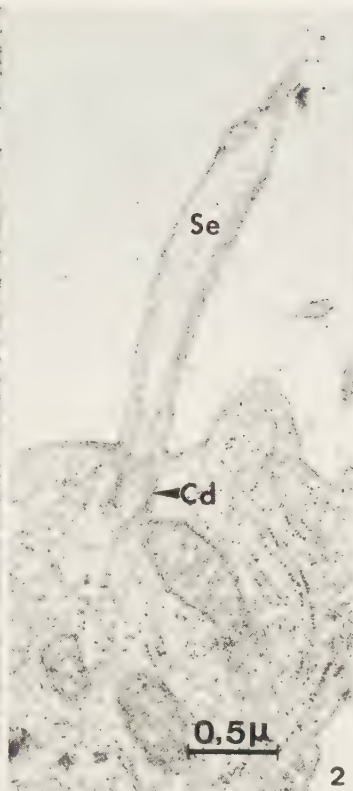
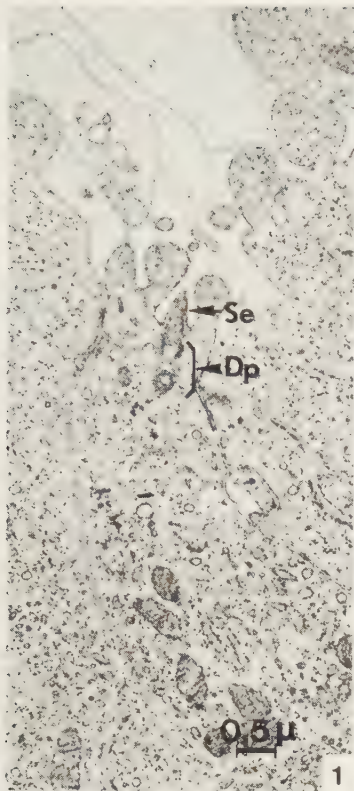


Planche IX

Différents types de segments externes au stade 40 de l'embryogenèse.

Fig. 1. - Segment externe typique constitué de disques (d) régulièrement empilés et ouverts sur la lumière épiphysaire (L) ; Sc : segment connectif.

Fig. 2, 3 et 4. - Divers aspects de segments externes irréguliers, tout à fait en fin d'embryogenèse. On reconnaît des disques (d) qui ont perdu leur relation avec la membrane plasmique (mp). De nombreuses vésicules (v) et corps multivésiculaires (cm) accompagnent les disques ; Sc : segment connectif ; Cd : centriole distal.

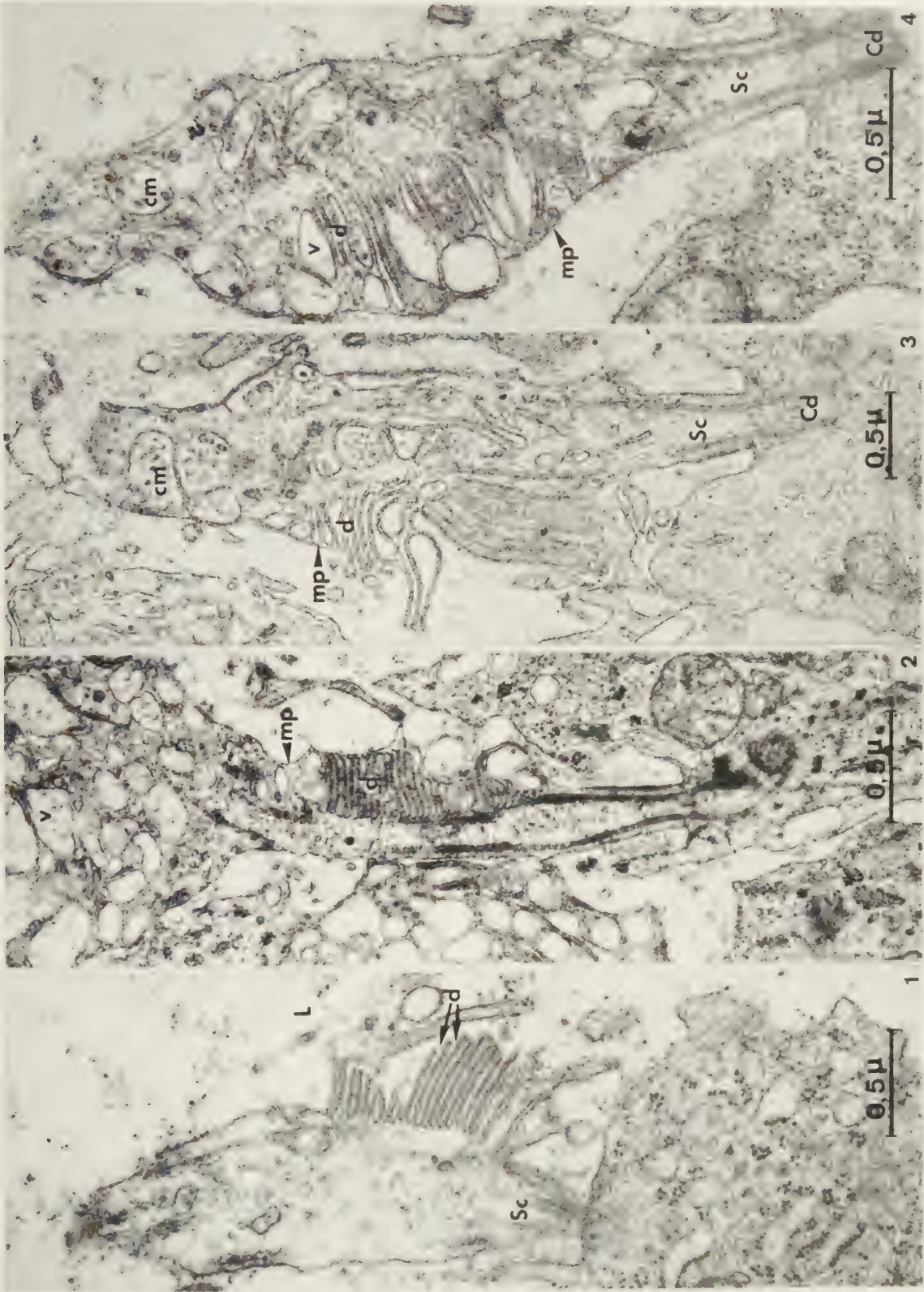


Planche X

Segments externes typiques et rudimentaires 3 jours
après la naissance.

- Fig. 1 et 2. - Segments externes typiques reliés à des photorécepteurs. Les disques (d) sont très régulièrement empilés. Des structures vésiculaires (v) et multivésiculaires (cm) sont observées à l'apex et dans l'axe de la massue ciliaire.
- Fig. 3. - Mitochondries de l'ellipsoïde du photorécepteur dont le segment externe est représenté sur la Fig. 2.
- Fig. 4 et 5. - Segments externes rudimentaires reliés à des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires. Ils renferment de nombreux corps vésiculaires (v), multivésiculaires (cm) et denses (cd). Quelques structures lamellaires (l) évoquent des disques. Les mitochondries (m) de l'ellipsoïde (El) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires ont un aspect cytologique comparable à celui des mitochondries des photorécepteurs (Fig. 1 et 3).

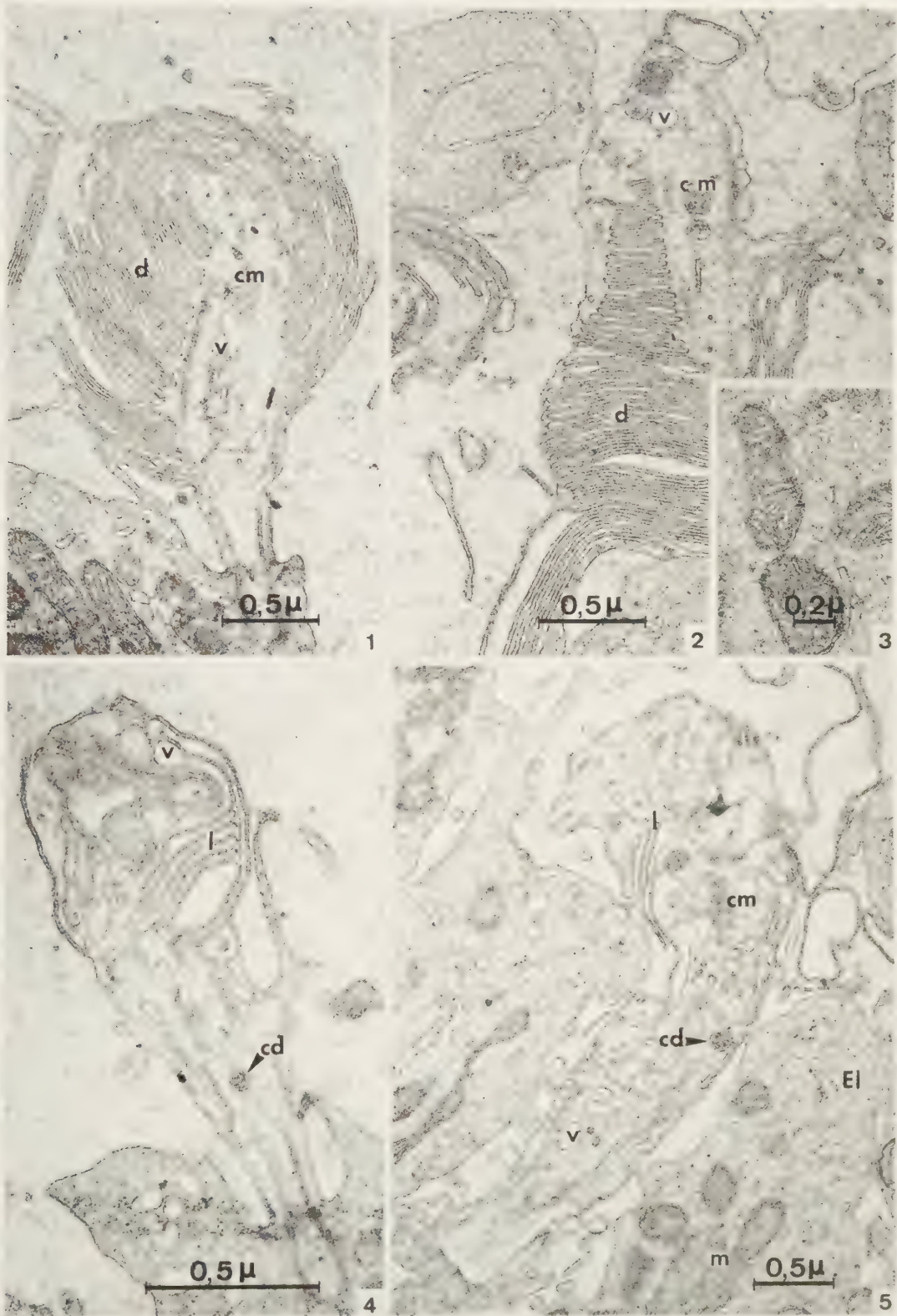


Planche XI

Aspects cytologiques de l'épithélium épiphysaire au stade 30 de l'embryogenèse.

- Fig. 1. - En bordure de la lumière épiphysaire (L), toutes les cellules se terminent au même niveau. Dans le segment interne (SI) des cellules de la lignée sensorielle (CLS), les vacuoles lipidiques (vl) sont bien représentées. Les autres organites cellulaires : mitochondries (m), ergastoplasme (Er) sont épars et l'appareil de Golgi (G) est peu développé.
- Fig. 2. - Vue générale de la base de l'épithélium épiphysaire. De nombreuses cellules contiennent des "corps autophagiques" (ca). Certaines sections de cellules interstitielles de type épendymaire (CI), montrent des pigments (Pi) ; lb : lamelle basale.

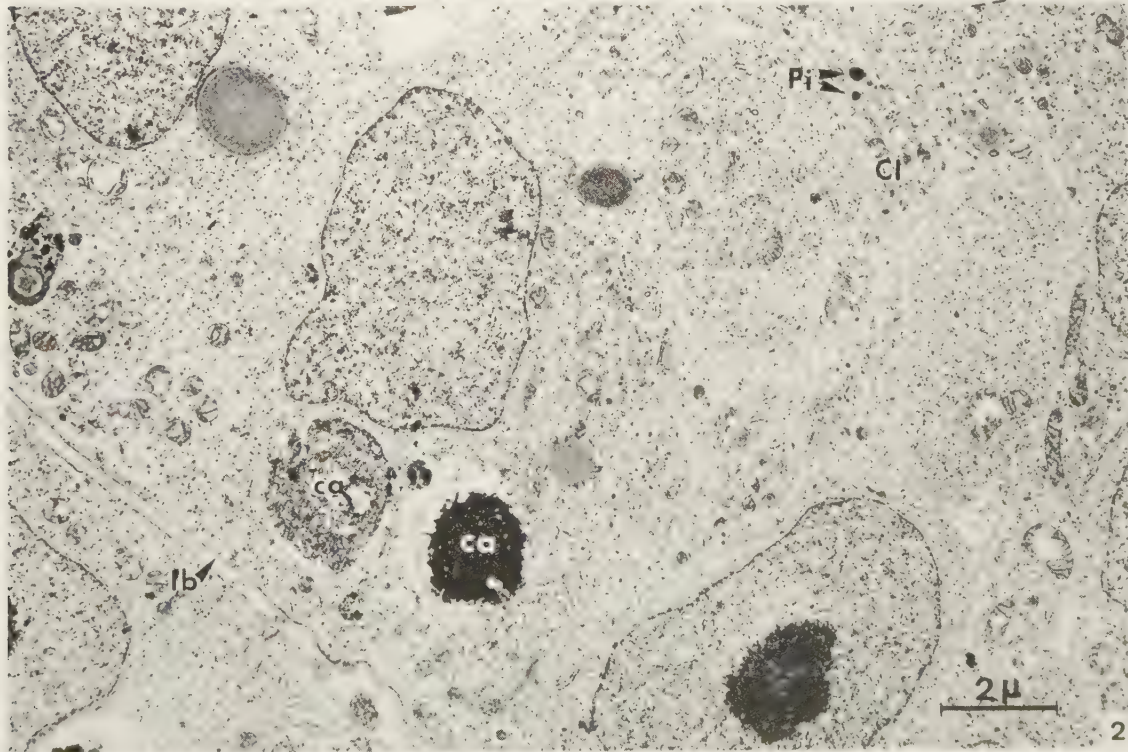
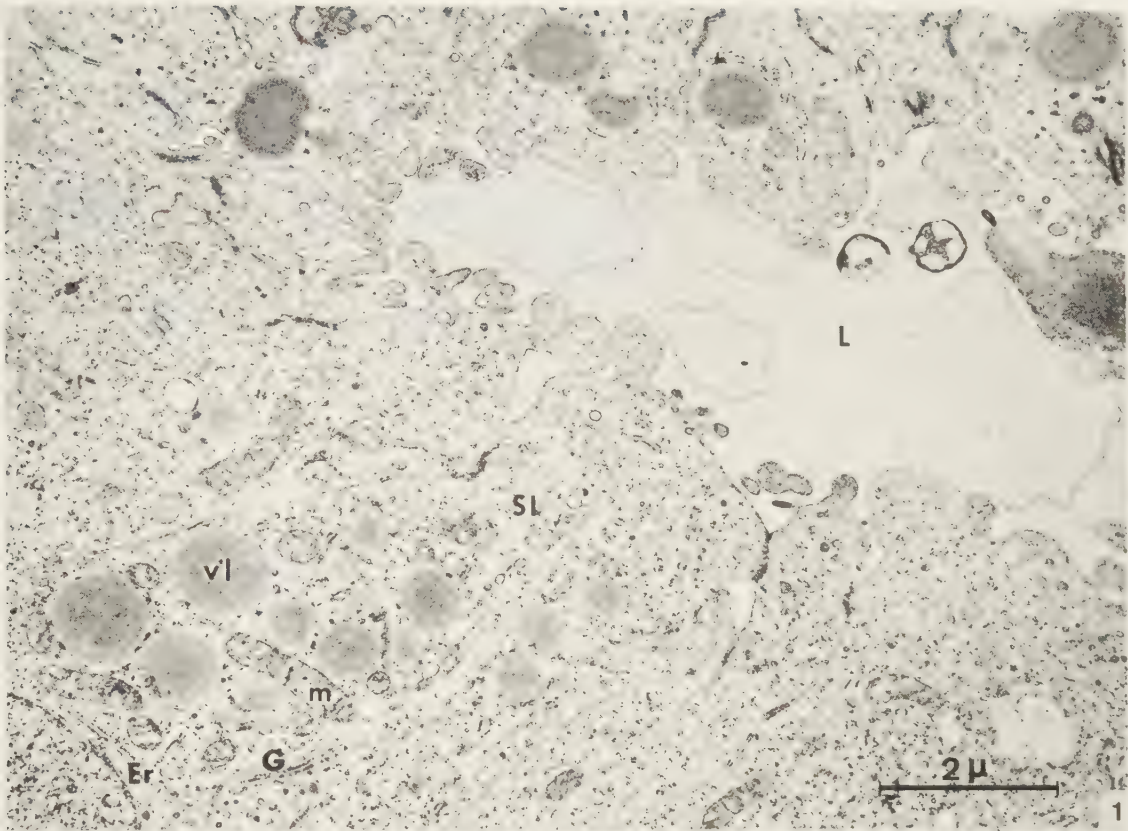


Planche XII

Aspects cytologiques de l'épithélium épiphysaire et des fibres
nerveuses de la lumière épiphysaire au stade 32
de l'embryogenèse.

Fig. 1. - Dans la lumière épiphysaire (L), de nombreuses sections de fibres nerveuses (fn) sont identifiées ; M : macrophage ; El : ellipsoïdes des cellules de la lignée sensorielle.

Fig. 2. - Les cellules de la lignée sensorielle (CLS) ont une architecture caractéristique. La région distale du segment interne, contenant l'ellipsoïde (El), fait saillie dans la lumière épiphysaire. La cellule se rétrécit au niveau de l'isthme (I) puis s'élargit dans les régions du myoïde (My) et du corps cellulaire (Cc) où se trouve le noyau (N) ; Pb : pédicule basal. Les cellules interstitielles de type épendymaire (CI) possèdent un cytoplasme relativement moins dense que celui des "CLS". Leur bordure apicale est pourvue de quelques microvillosités (mv).

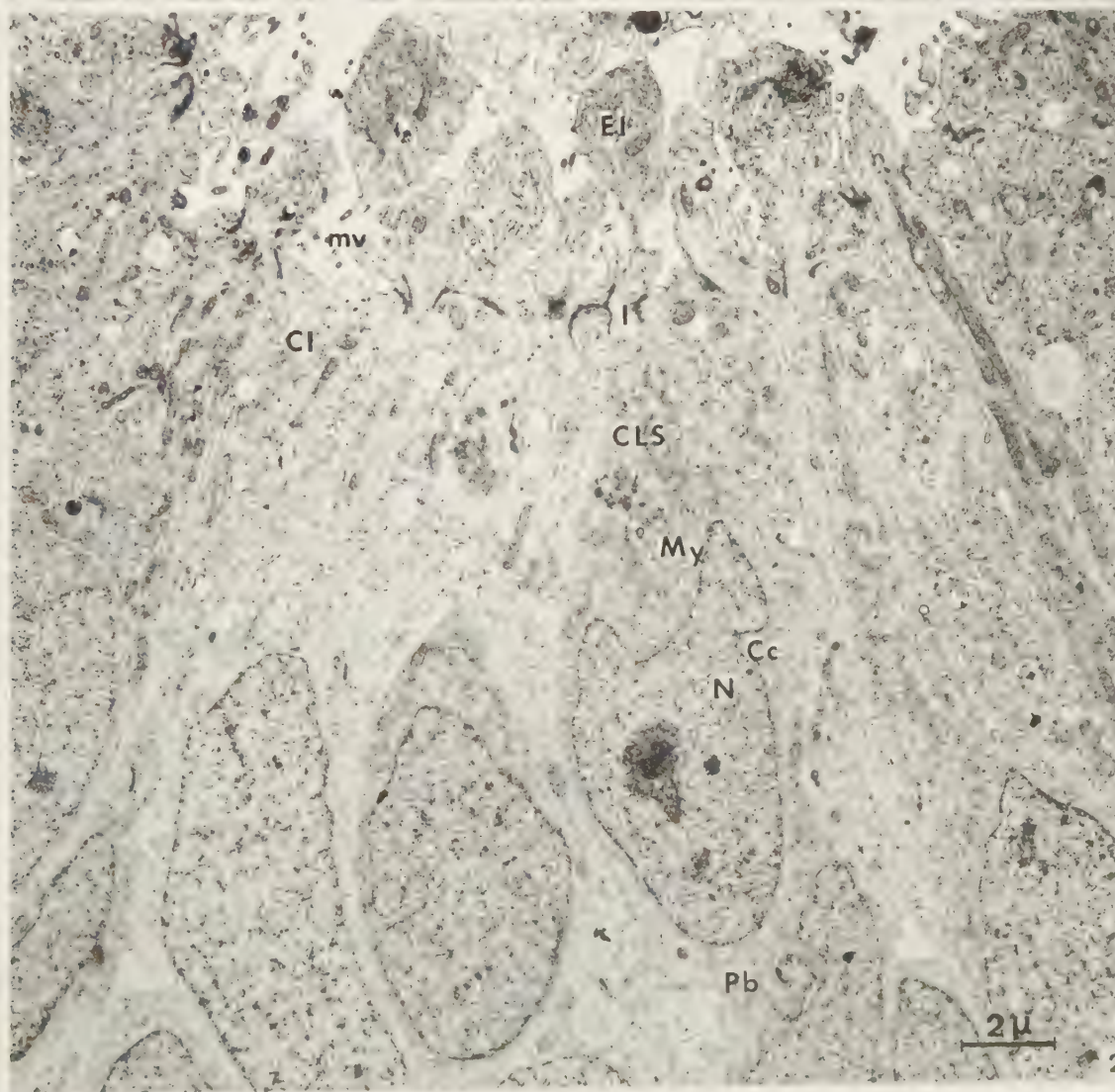
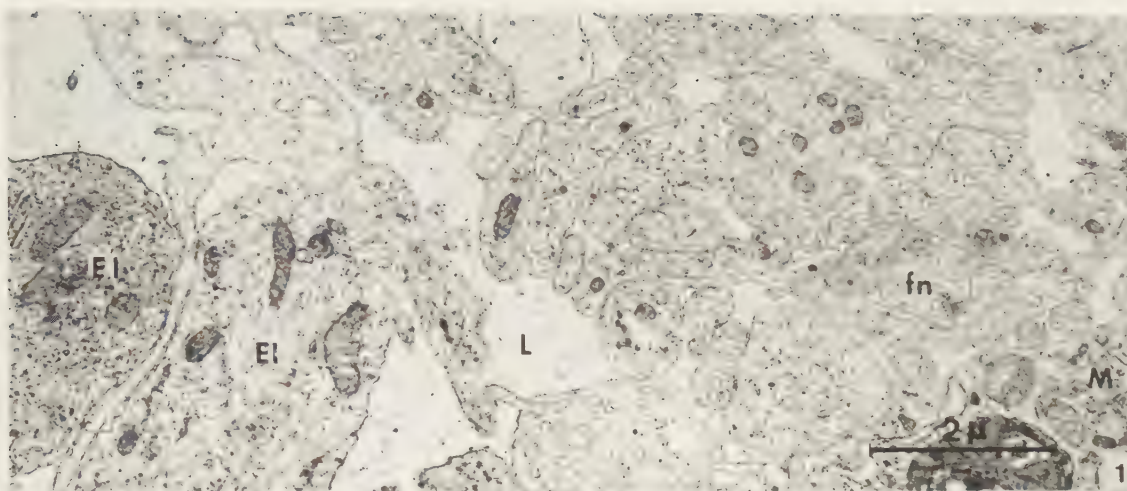


Planche XIII

Aspects cytologiques de l'épithélium épiphysaire au stade 32 de l'embryogenèse : le segment interne.

La région distale du segment interne des cellules de la lignée sensorielle fait nettement saillie dans la lumière épiphysaire (L). Les mitochondries (m) et les saccules ergastoplasmiques (Er) sont nombreux au niveau des ellipsoïdes (El). Dans la région de l'isthme (I) les "CLS" présentent des zonules d'adhésion (Za) avec les cellules avoisinantes. Au niveau d'un myofide (My), l'appareil de Golgi (G) apparaît encore peu développé. Les saccules ergastoplasmiques (Er) sont courts mais accompagnés de nombreux polysomes (r). Un grain dense (GD) est observé à proximité de l'aire golgienne ; CI : cellule interstitielle de type épendymaire.

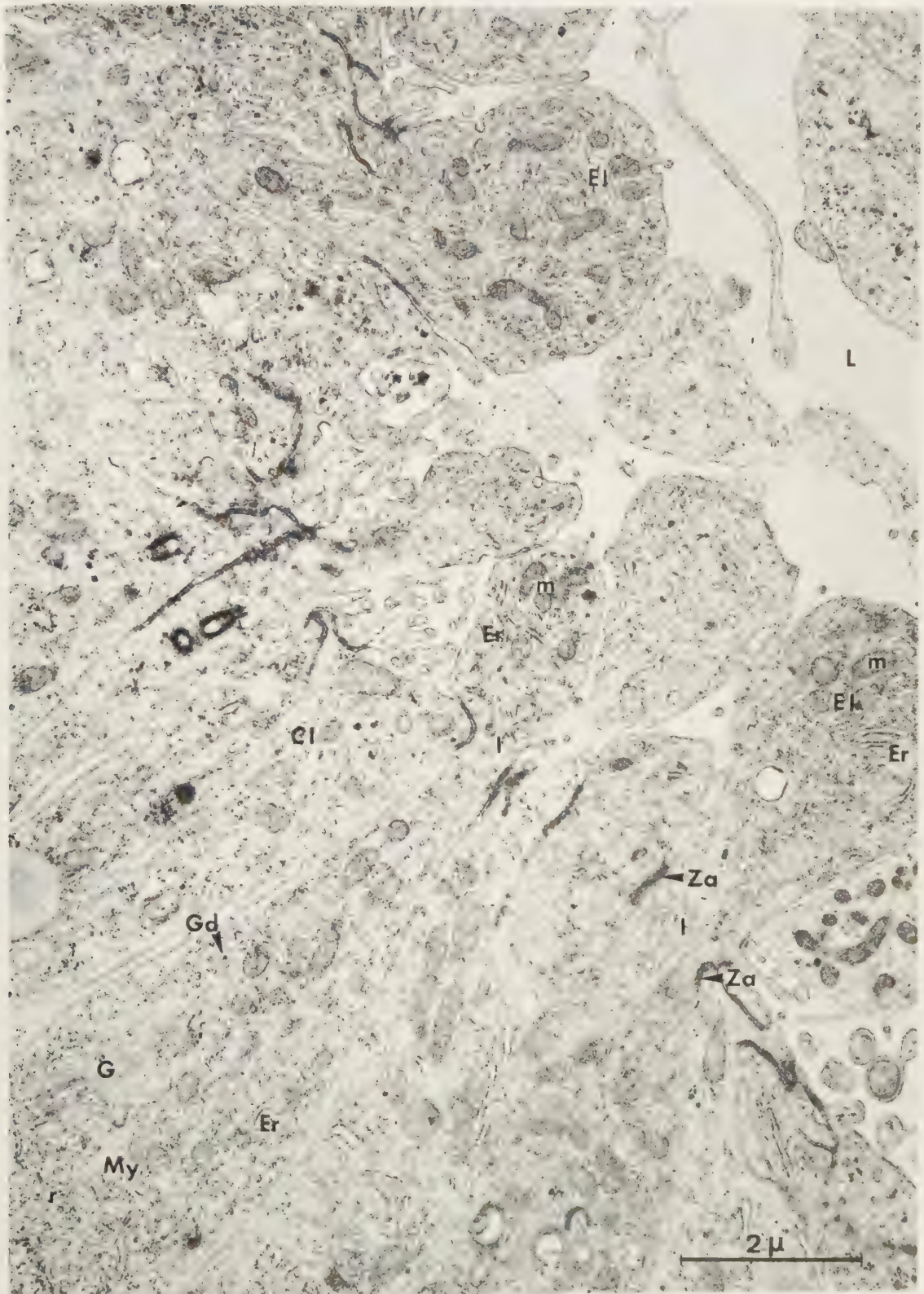


Planche XIV

Aspects cytologiques de l'épithélium épiphysaire aux stades
32 et 33 de l'embryogenèse : les régions basales.

Fig. 1. - Régions basales de l'épithélium épiphysaire au stade 32 de l'embryogenèse. Les pédicules basaux (Pb) des cellules de la lignée sensorielle sont trapus et ne reposent jamais sur la lamelle basale (lb) ; CI : cellules interstitielles de type épendymaire.

Fig. 2. - Régions basales de l'épithélium épiphysaire au stade 33 de l'embryogenèse. Certains pédicules basaux (Pb) de cellules de la lignée sensorielle s'affinent et contiennent quelques grains denses (GD) ; lb : lamelle basale.

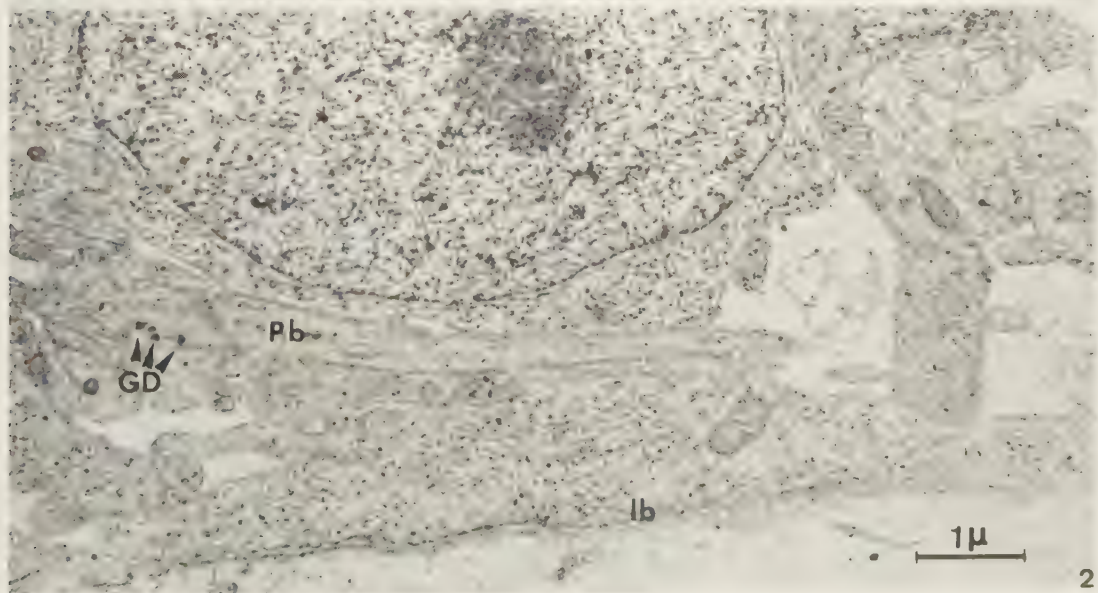
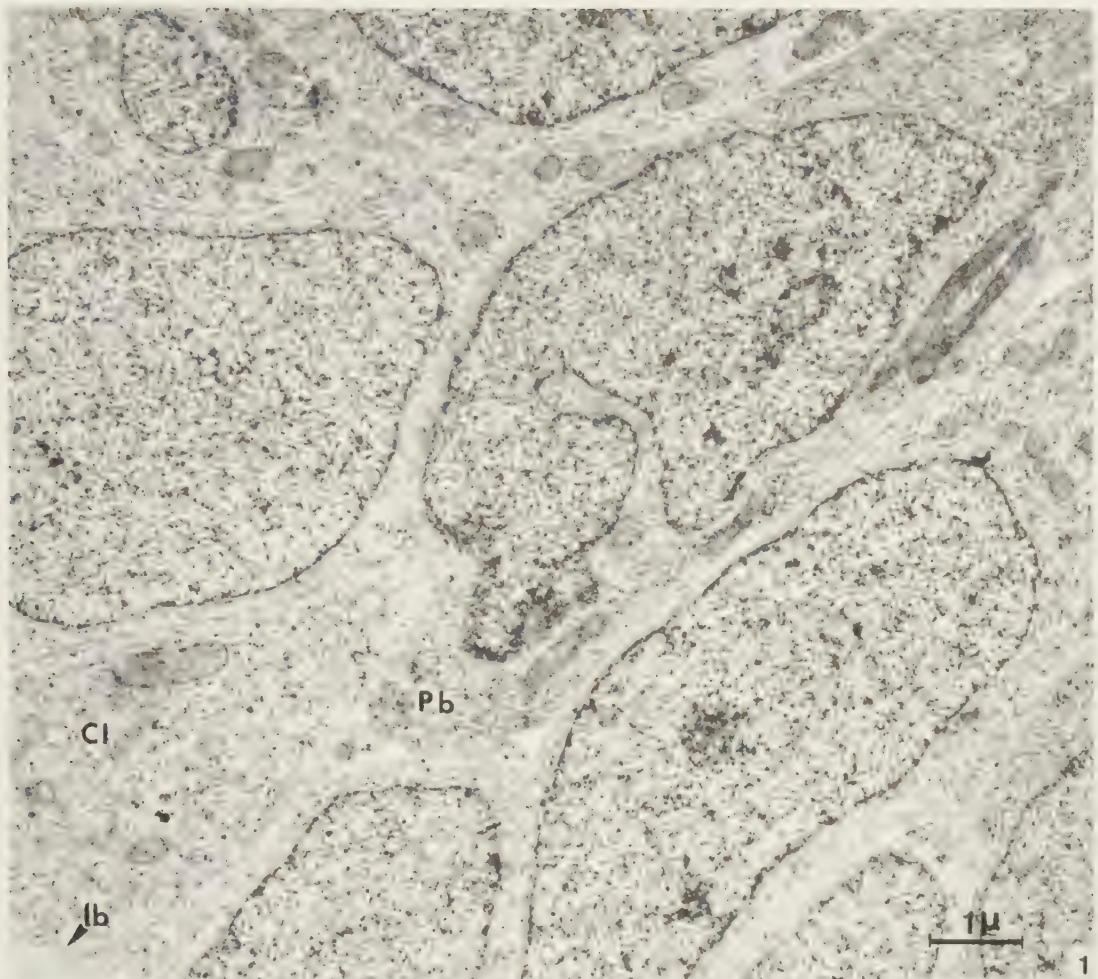


Planche XV

Aspects cytologiques de l'épithélium épiphysaire au
stade 35 de l'embryogenèse.

- Fig. 1. - Dans la région proximale du segment interne, les saccules ergastoplasmiques (Er) sont maintenant bien développés au niveau des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires. Ils sont orientés selon l'axe cellulaire et accompagnés de nombreux polysomes (r).
- Fig. 2. - Appareil de Golgi (G) d'un photorécepteur rudimentaire sécrétoire d'où dérivent de nombreux grains denses (GD).
- Fig. 3. - Pédicules basaux (Pb) de photorécepteurs rudimentaires sécrétoires contenant des grains denses (GD) d'origine golgienne.

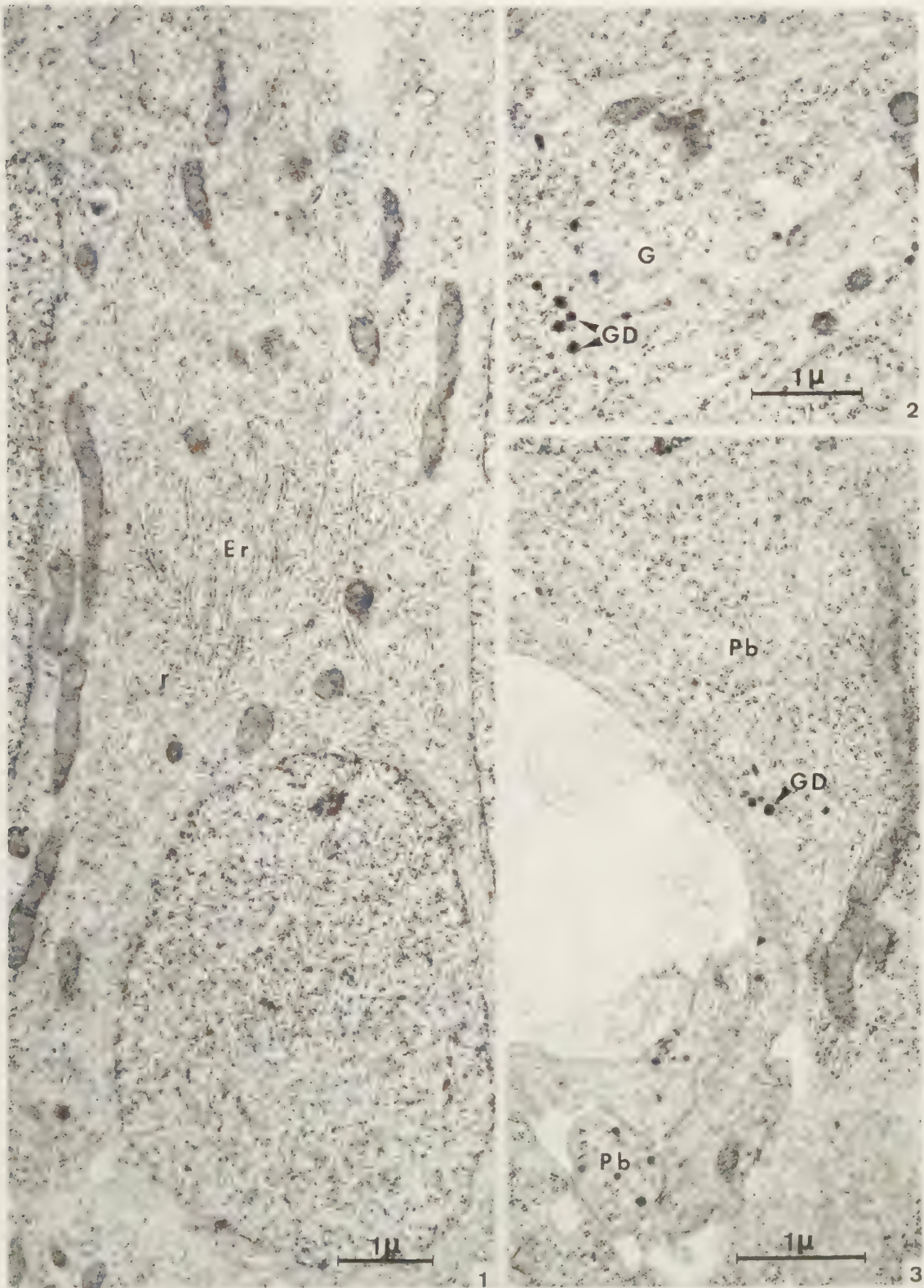


Planche XVI

Aspects cytologiques de l'épithélium épiphysaire et des fibres nerveuses de la lumière épiphysaire au stade 39 de l'embryogenèse.

Fig. 1. - Fibres nerveuses de la lumière épiphysaire : certaines d'entre elles (fn_1) conservent un aspect cytologique sain. D'autres (fn_2) semblent subir un phénomène de dégénérescence ; elles sont riches en inclusions lipidiques (vl) et il est difficile d'y reconnaître des organites cytoplasmiques ; m : mitochondrie ? Des sections contenant un matériel dense (flèches) pourraient correspondre à des fibres nerveuses à un stade très avancé de dégénérescence.

Fig. 2. - Lumière épiphysaire (L) et segments internes (SI) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires ; CI : cellules interstitielles ; vl : vacuoles lipidiques ; mv : microvillosité ; El : ellipsoïde ; My : myofide contenant des grains denses (GD) de sécrétion.

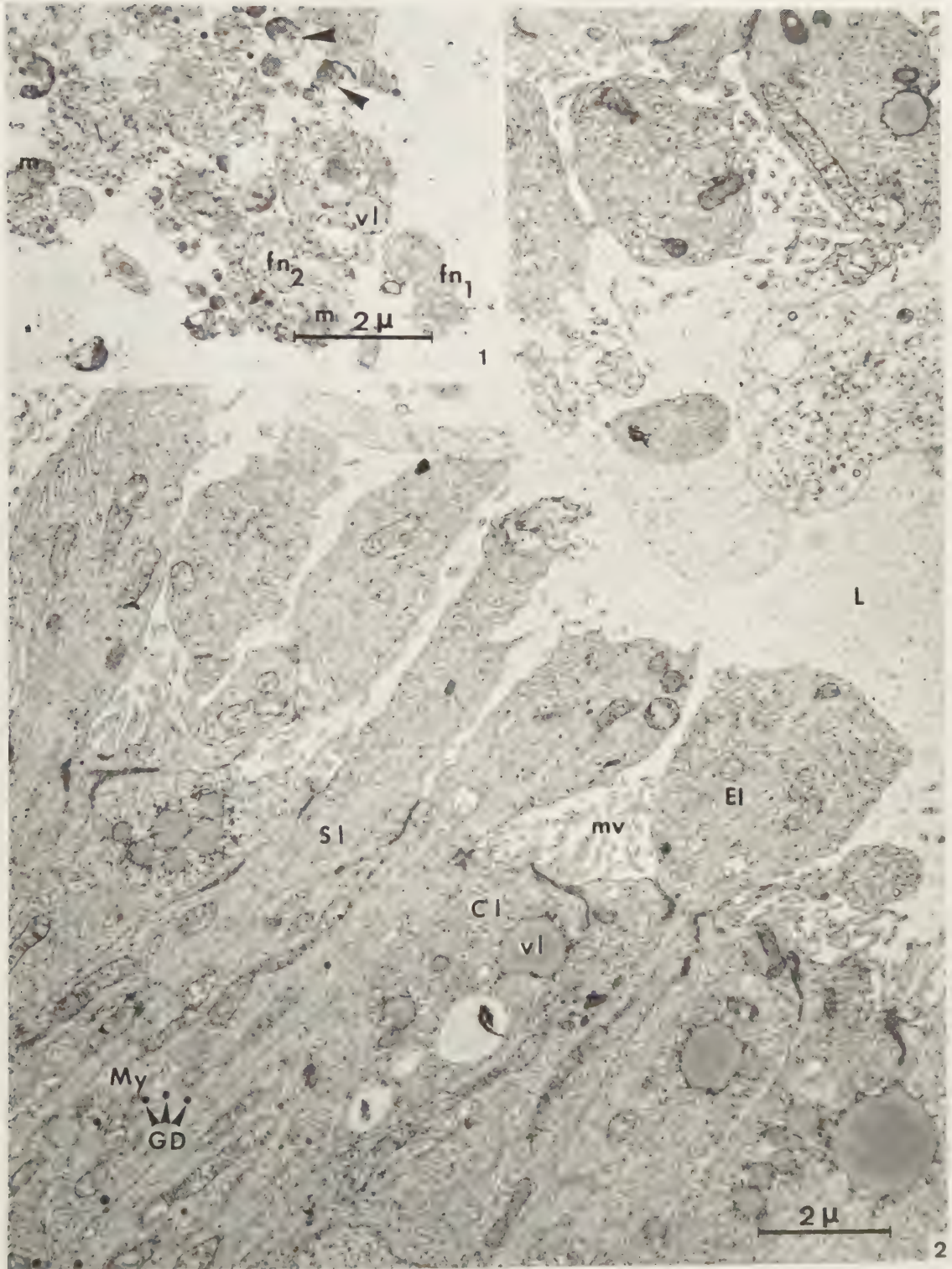


Planche XVII

Ultrastructure d'un photorécepteur rudimentaire sécrétoire au
stade 40 de l'embryogenèse.

Le segment externe (Se) -qui sur coupes sériées a pu être observé en relation avec le segment interne (SI)- est constitué de disques très régulièrement empilés. De nombreux grains denses (GD) sont observés dans la région du myofibrille (My) et dans le cytoplasme du corps cellulaire (Cc). Les saccules ergastoplasmiques (Er) sont très développés et épousent la forme du noyau ; CI : cellule interstitielle de type épendymaire.

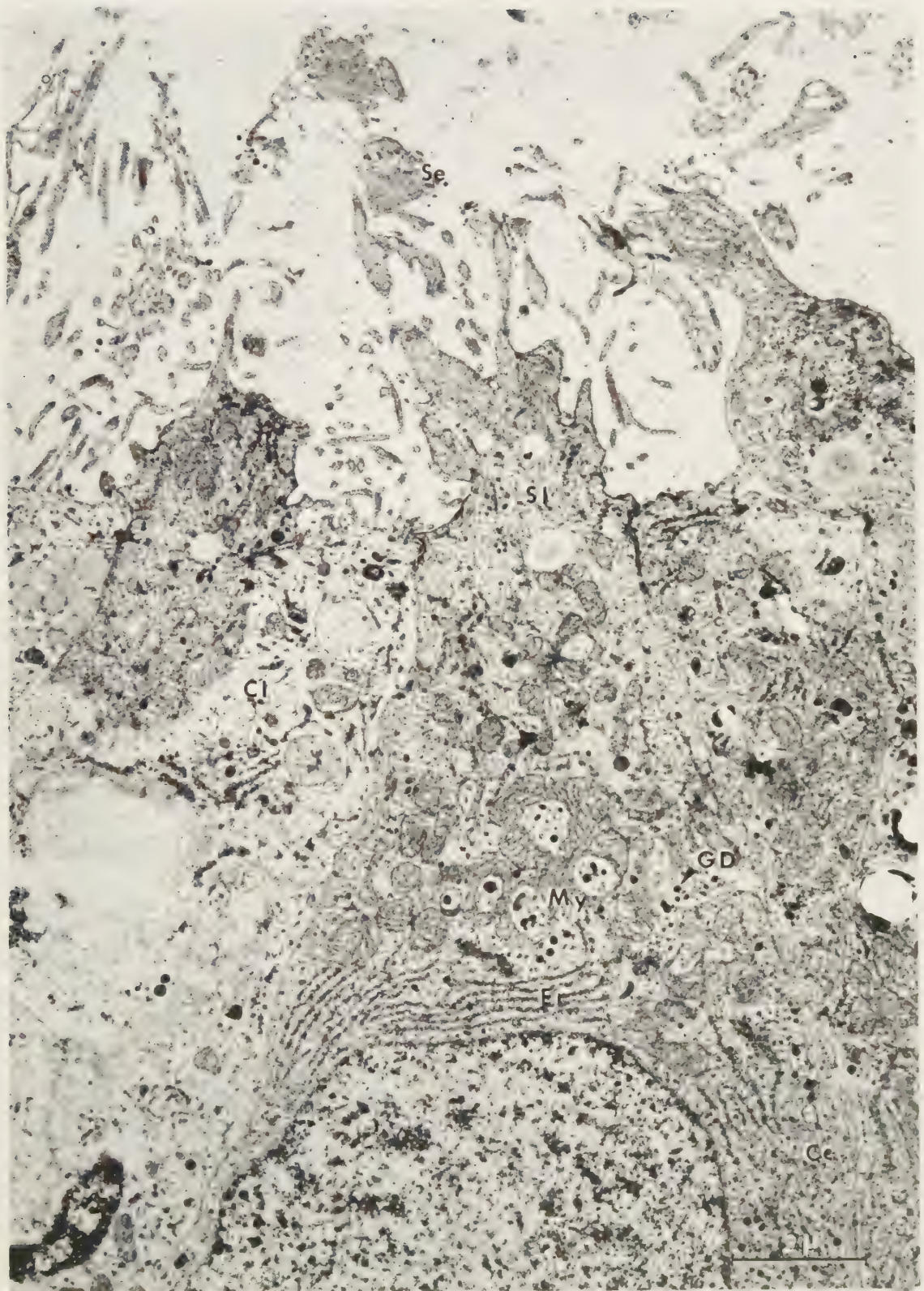


Planche XVIII

Aspects cytologiques de l'épithélium épiphysaire au stade 40
de l'embryogenèse : les régions basales.

Fig. 1. - A côté de pédicules basaux de photorécepteurs rudimentaires sécrétoires (Pb_1), riches en grains denses (GD), est observé un pédicule basal de photorécepteur (Pb_2). Remarquer l'aspect ultrastructural très différent des grains denses (GD) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires et des grains denses (flèche) des photorécepteurs.

Fig. 2. - Les pédicules basaux (Pb) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires, riches en grains denses d'origine golgienne, sont toujours séparés des espaces péricapillaires (ep) par les corps cellulaires (parfois par les prolongements basaux) des cellules interstitielles de type épendymaire (CI).

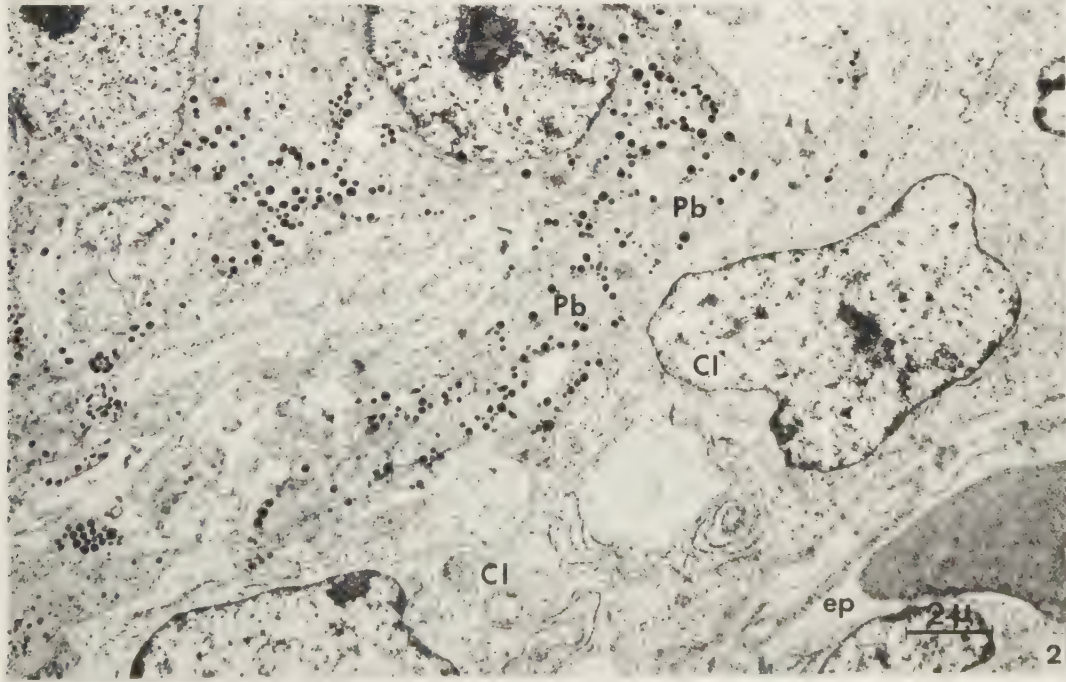
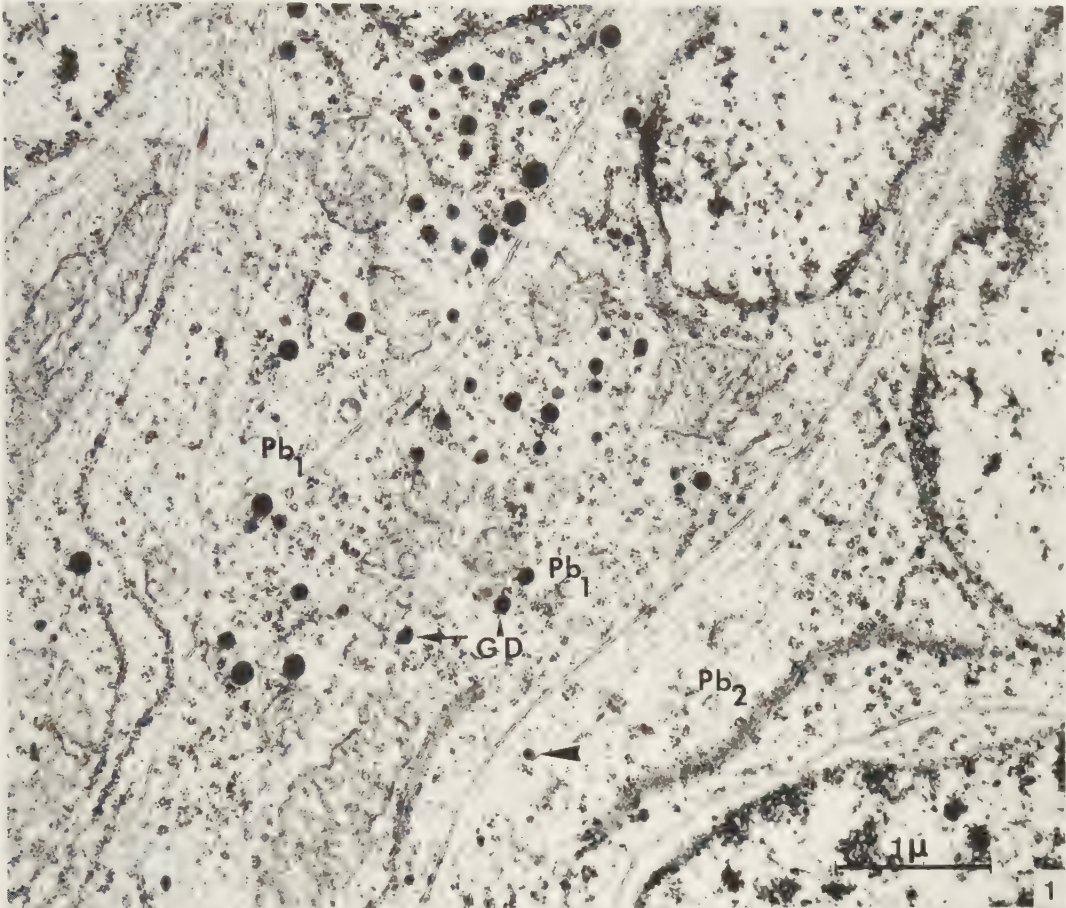


Planche XIX

Différenciation de l'innervation sensorielle pinéalofoque aux stades 31 et 32 de l'embryogenèse.

- Fig. 1. - Stade 31 : cellule encore peu différenciée mais, étant donné sa localisation à la base de l'épithélium épiphysaire, il pourrait s'agir d'un neuroblaste.
- Fig. 2. - Stade 32 : neurone sensoriel intra-épithélial d'où émerge un prolongement axonique (Ax). L'appareil de Golgi (G) est bien développé et les corps de Nissl (cN) prennent une extension importante dans le périkaryon, essentiellement au niveau du cône d'émergence (CE) du prolongement axonique ; flèches : grains denses.

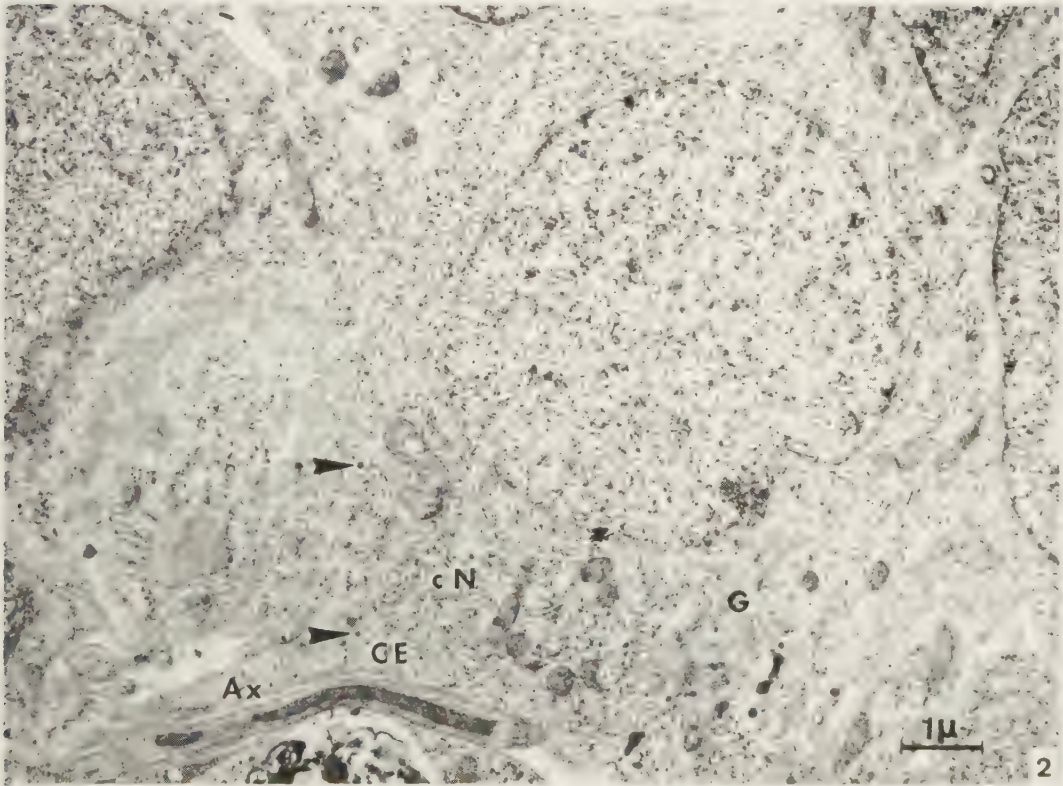
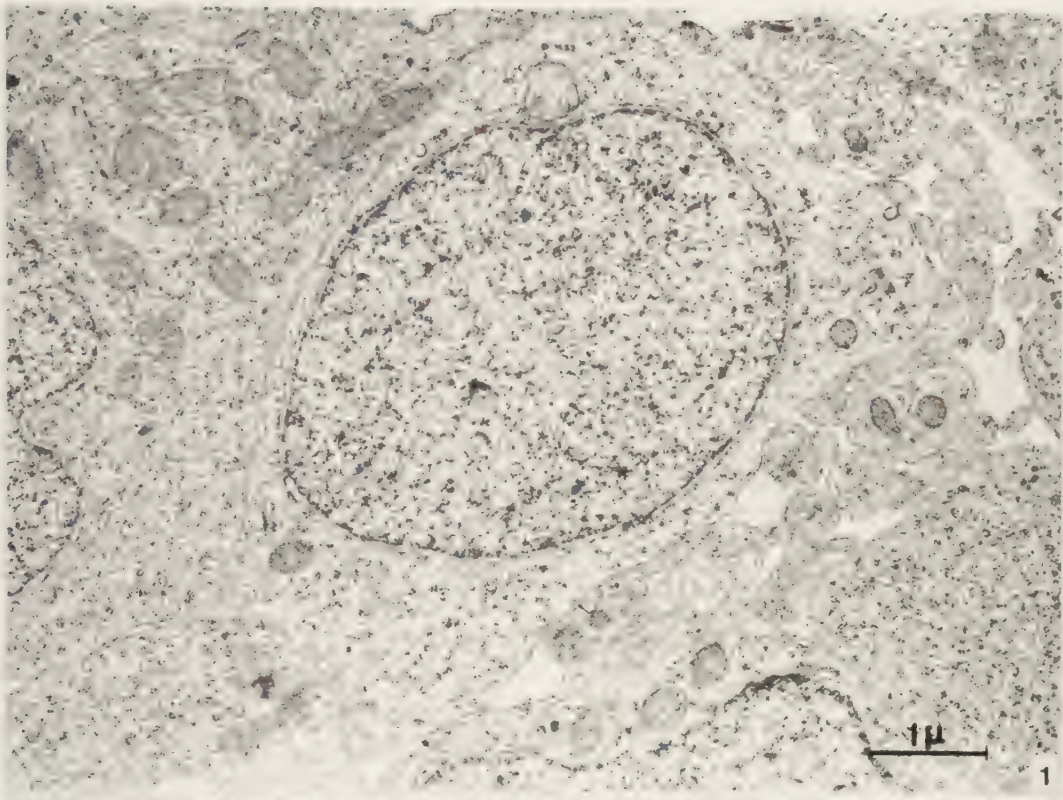


Planche XX

Différenciation de l'innervation sensorielle pinéalofoveale du
stade 34 au stade 38 de l'embryogenèse.

Fig. 1. - Stade 34 : corps cellulaire d'un neurone sensoriel intra-épithélial (CG) bien différencié ; G : appareil de Golgi ; Nt : neurotubules.

Fig. 2. - Stade 37 : neurone sensoriel intra-épithélial (CG) d'où émerge un prolongement axonique (Ax) qui rejoint d'autres prolongements nerveux (fn). Le prolongement axonique est essentiellement riche en microfilaments (mf).

Fig. 3. - Stade 38 : ruban synaptique dans un prolongement basal (Pb) de photorécepteur. Il est localisé face à une dendrite (D). La densification présynaptique (dp) est bien marquée. Les vésicules synaptiques (vs) sont peu représentées au niveau du pédicule synaptique.

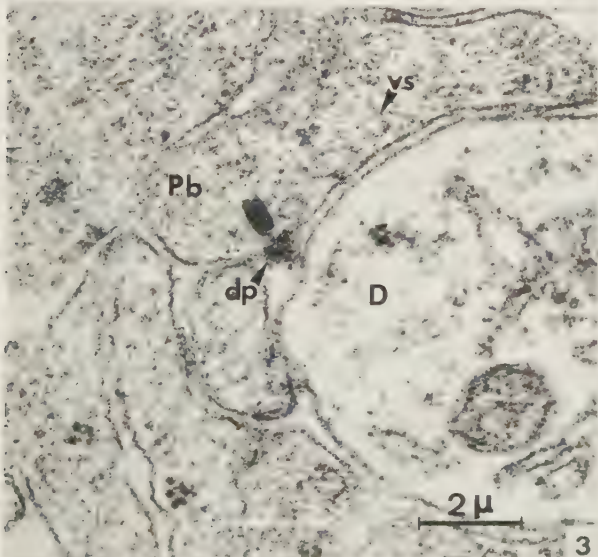
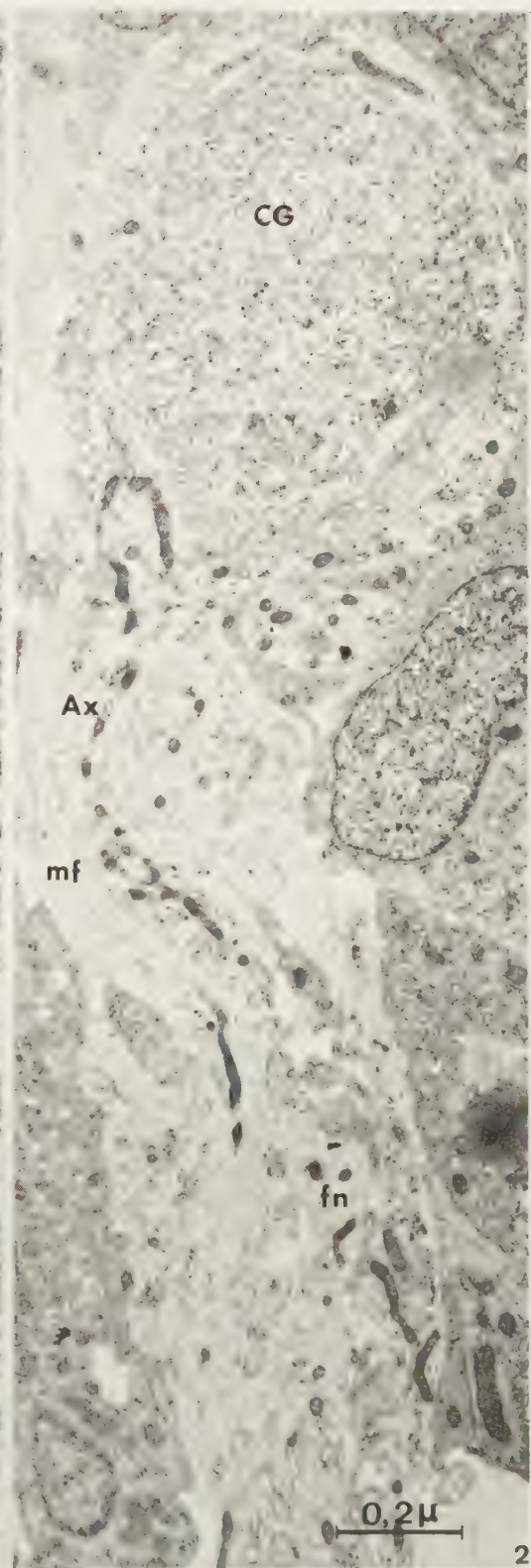
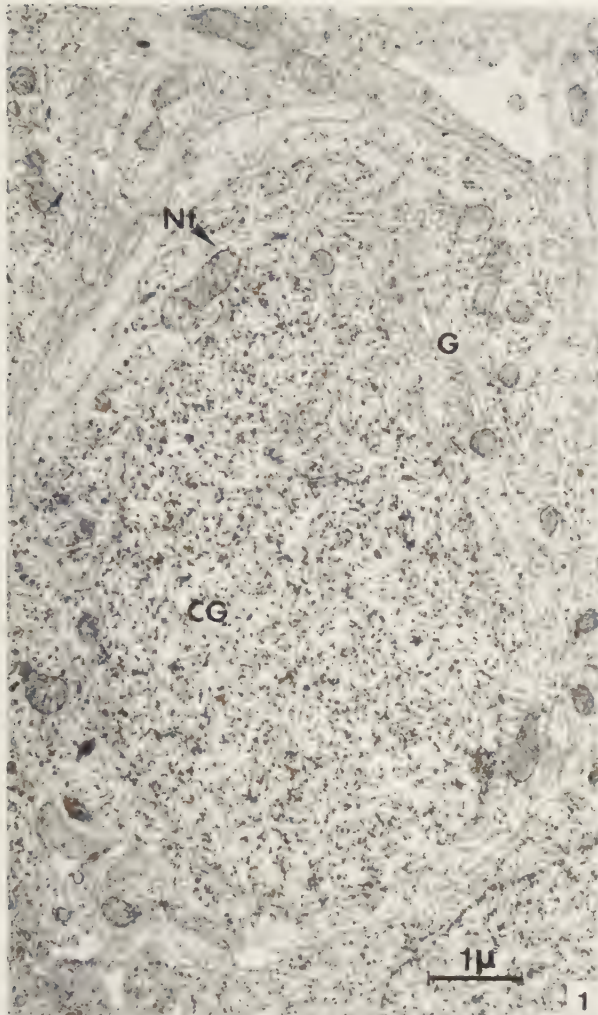


Planche XXI

Différenciation de l'innervation sensorielle pinéalofoveale
au stade 40 de l'embryogenèse.

Fig. 1. - Neurone sensoriel intra-épithélial (CG) d'où émerge un prolongement dendritique (D). Un contact synaptique (synapse flèche) s'établit entre un pédicule basal (Pb) de photorécepteur et une dendrite (D).

Fig. 2. - Fort grandissement du contact synaptique de la Fig. 1.

Fig. 3. - Ruban (flèche), localisé face à un prolongement dendritique (D). Les densifications pré (dp_1) et post (dp_2) synaptiques sont bien marquées. Les pédicules basaux (Pb) des photorécepteurs sont riches en vésicules synaptiques (vs).

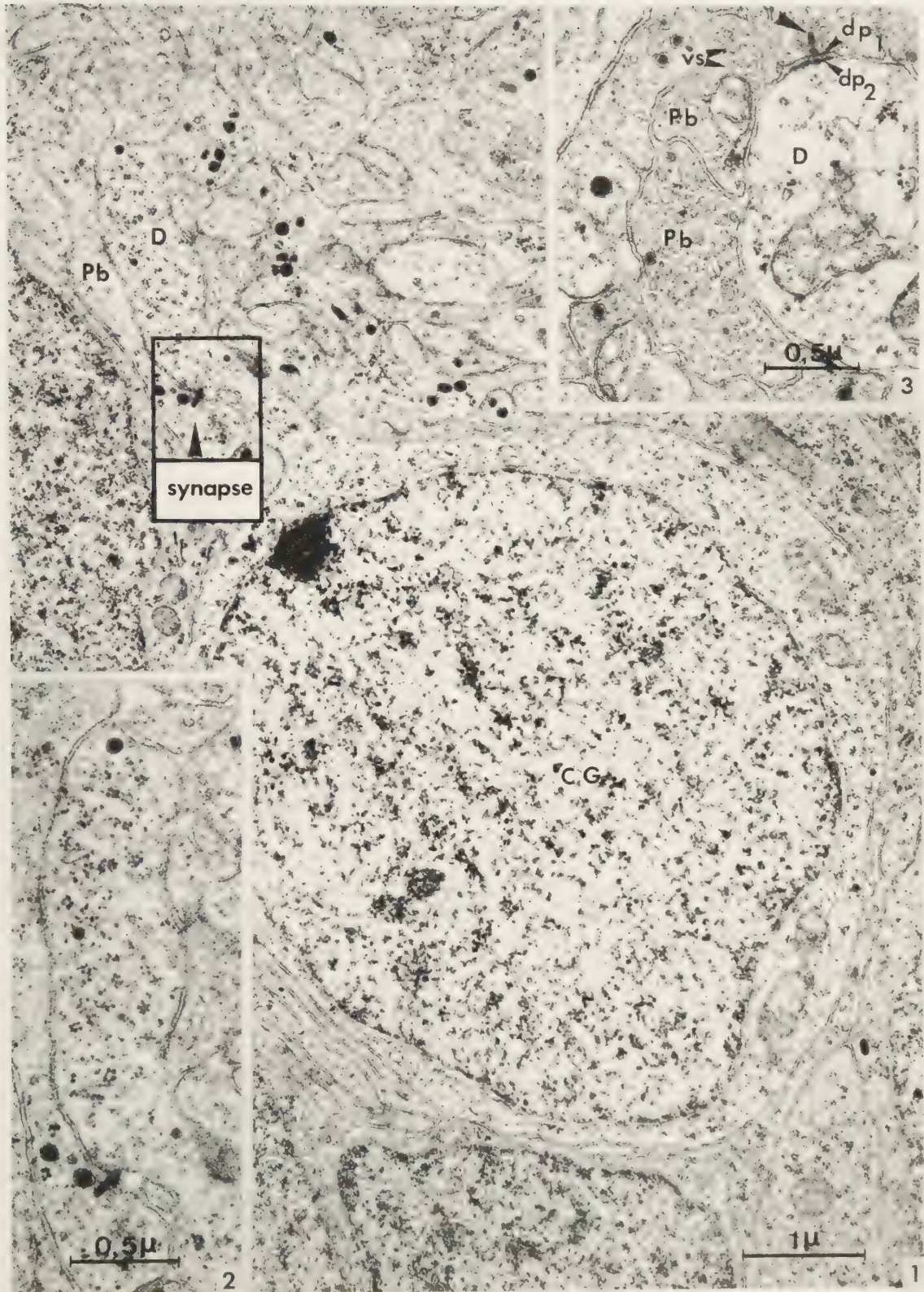


Planche XXII

Différenciation de l'innervation sensorielle pinéalofoveale
au stade 40 de l'embryogenèse.

- Fig. 1. - Neurone sensoriel intra-épithélial (CG) d'où émerge un prolongement dendritique (D).
- Fig. 2. - Fort grandissement au niveau de la dendrite de la Fig. 1 montrant la présence de 2 contacts synaptiques (flèches) ;
Pb : pédicules basaux de photorécepteurs.
- Fig. 3. - Dans un photorécepteur rudimentaire sécrétoire, un ruban (RCV), circonscrit de vésicules claires et de grains denses, ne présente aucun contact avec des membranes.

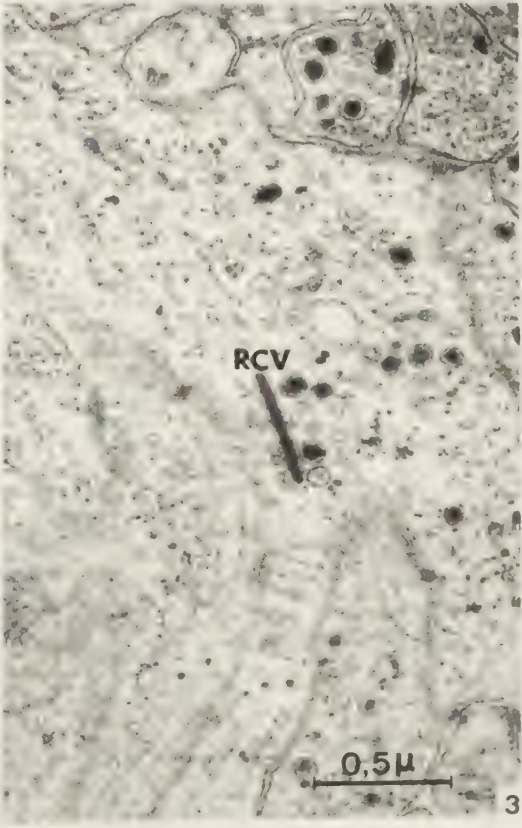
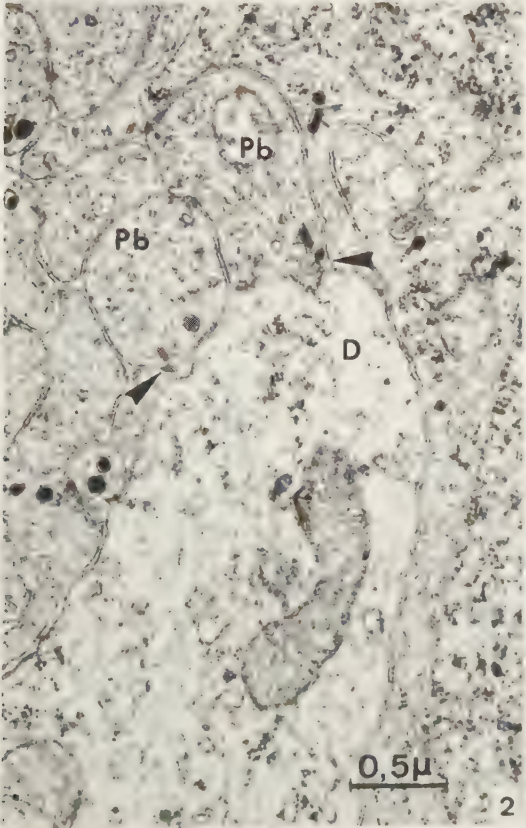
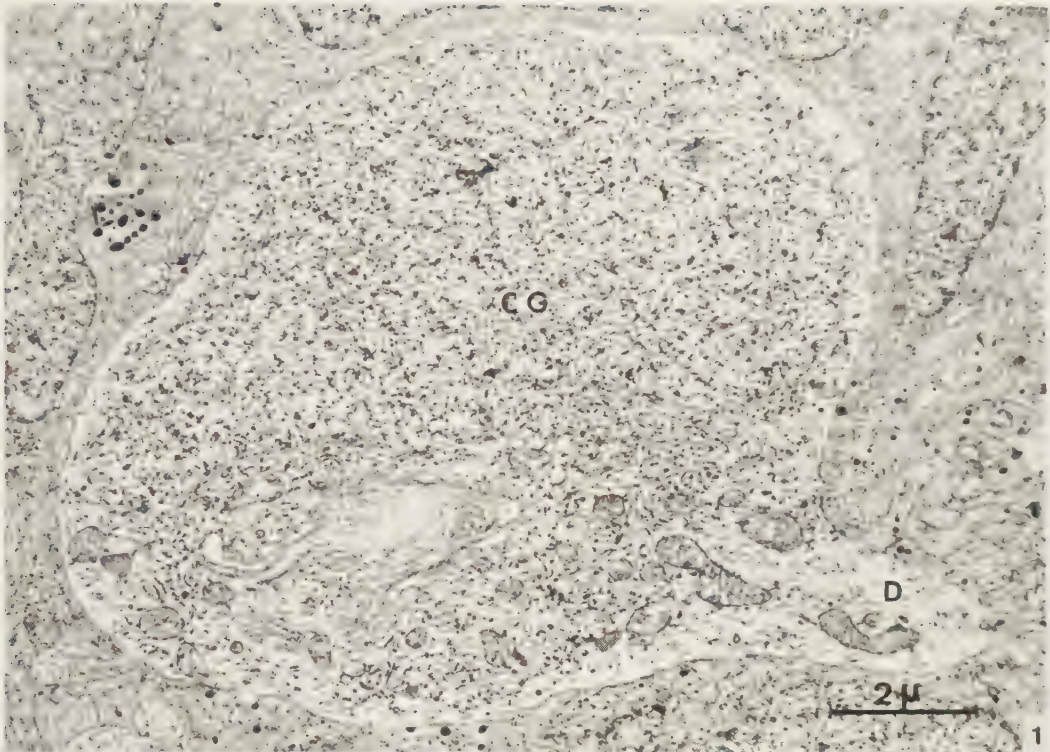


Planche XXIII

Aspects cytologiques de l'innervation sensorielle pinéalofuge
3 jours après la naissance.

Fig. 1. - Un ruban synaptique (flèche), dans un pédicule basal de photorécepteur, est localisé face au corps cellulaire d'un neurone sensoriel (CG).

Fig. 2. - Fort grandissement du contact synaptique de la Fig. 1.

Fig. 3. - Pédicules basaux de photorécepteurs rudimentaires sécrétoires (Pb) reposant sur la lamelle basale (lb). L'un d'entre eux renferme un ruban (RCV) circonscrit de vésicules et localisé face à la lamelle basale.

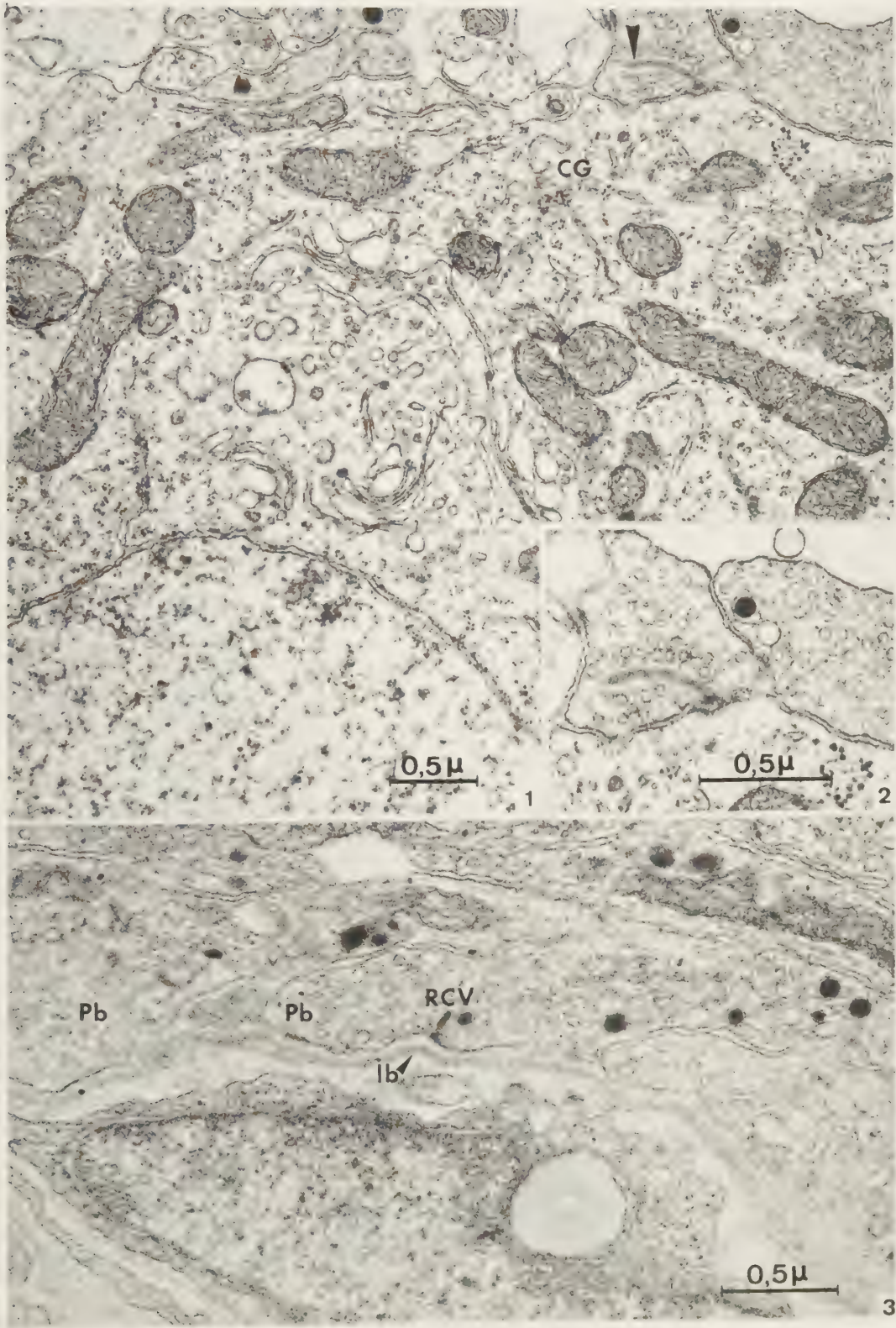


Planche XXIV

Détection des monoamines chez l'adulte et l'immature de Lacerta vivipara J., dans les conditions naturelles et expérimentales (Technique de Falck et Hillarp)

Fig. 1 et 2. - Epiphyse adulte dans les conditions naturelles.

Fig. 1 : la fluorescence (jaune), caractéristique de la présence de 5-HT, est localisée dans les 3/4 basaux de l'épithélium et se rapporte aux photorécepteurs rudimentaires sécrétoires. La fluorescence (verte) périépiphysaire affecte les afférences catécholaminergiques (flèches). L : lumière épiphysaire. x 130.

Fig. 2 : faisceau de fibres (vertes) catécholaminergiques (flèches) à proximité de l'épiphyse ; E : épithélium épiphysaire. x 160.

Fig. 3 et 4. - Epiphyse adulte (Fig. 3) et immature (Fig. 4), après un traitement par la Réserpine : la 5-HT a été libérée de ses sites de stockage au niveau de l'épithélium (E). La fluorescence (verte) des fibres nerveuses pinéaloépithéliales périphériques (Fig. 3) ou intra-épithéliales (Fig. 4) n'est pas affectée par le traitement. Remarquer la présence d'inclusions à fluorescence aspécifique à l'apex de l'épithélium (Fig. 3).

Fig. 3, x 160 ; Fig. 4, x 320.

Fig. 5. - Epiphyse adulte après incorporation de 5-HTP : la fluorescence (jaune) s'étend et affecte tout l'épithélium (E) ; flèches : fibres catécholaminergiques. x 150.

Fig. 6. - Epiphyse immature dans les conditions naturelles : une fluorescence (jaune) intense est observée dans l'ensemble de l'épithélium (E) ; flèches : fibres catécholaminergiques. x 160.

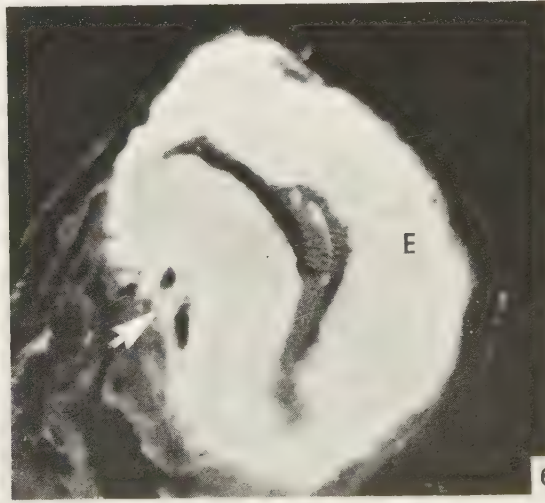
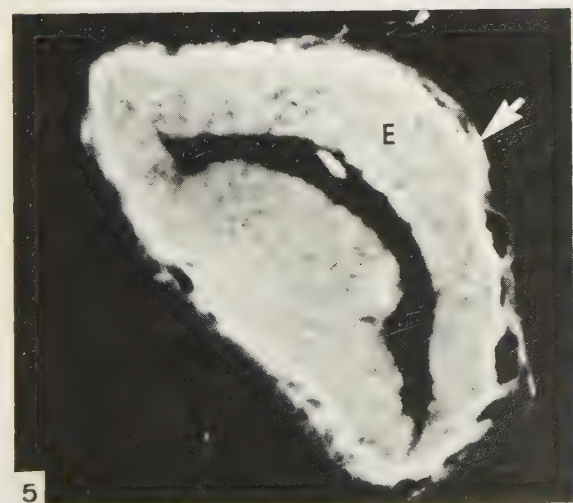
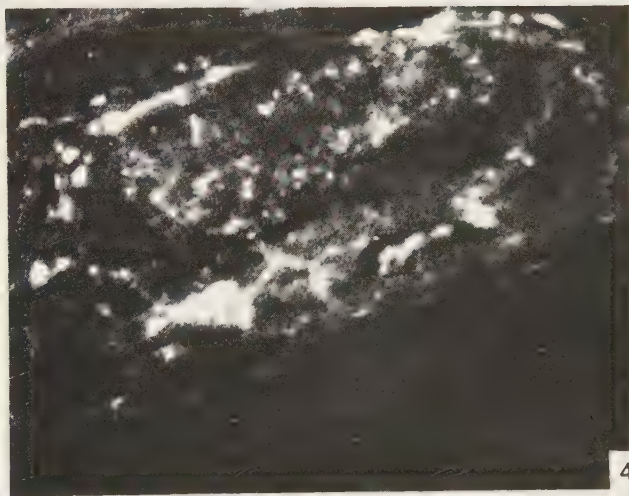


Planche XXV

Détection des monoamines chez l'embryon
de *Lacerta vivipara* J., dans les conditions naturelles
(Technique de Falck et Hillarp)

- Fig. 1. - Epiphyse distale au stade 35 : pas de fluorescence. Les contours de l'organe sont délimités par un pointillé . x 150.
- Fig. 2. - Epiphyse distale au stade 36 : apparition de la fluorescence (jaune) à la base de l'épithélium (E). x 220.
- Fig. 3. - Epiphyse distale au stade 37. x 230.
- Fig. 4. - Epiphyse distale au stade 37-38. x 280.
- Fig. 5. - Epiphyse distale au stade 38. x 360.
- Fig. 6. - Epiphyse distale au stade 39. x 400.

Remarquer la progression de l'étendue du tissu épithélial affecté par la fluorescence (jaune).



Planche XXVI

Détection des monoamines chez l'embryon et le nouveau-né
de *Lacerta vivipara* J., dans les conditions naturelles
(Technique de Falck et Hillarp)

- Fig. 1. - Epiphyse distale au stade 39-40. Fluorescence (jaune) intense à la base de l'épithélium. x 150.
- Fig. 2. - Epiphyse distale au stade 40. Nette localisation de la fluorescence (jaune) au niveau des cellules de la lignée sensorielle (CLS) et fluorescence (verte) des fibres catécholaminergiques périépiphysaires (flèches). x 450.
- Fig. 3. - Epiphyse proximale au stade 40. Fluorescence (jaune) épithéliale peu étendue par rapport à ce qui est observé au niveau de l'épiphyse distale (Fig. 2). x 300.
- Fig. 4. - Oeil pariétal au stade 40. Absence de fluorescence (jaune ou verte). Les contours de l'organe sont délimités par un pointillé. x 150.
- Fig. 5. - Epiphyse 30 heures après la naissance : intense fluorescence (jaune) localisée au niveau des CLS et nombreuses fibres catécholaminergiques (flèches) à la périphérie de l'épiphyse. x 520.

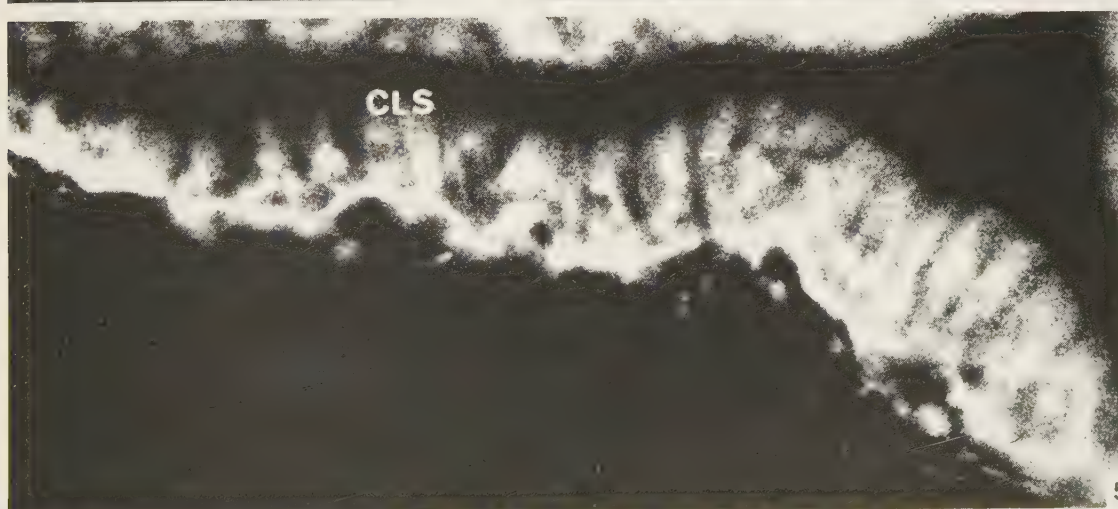
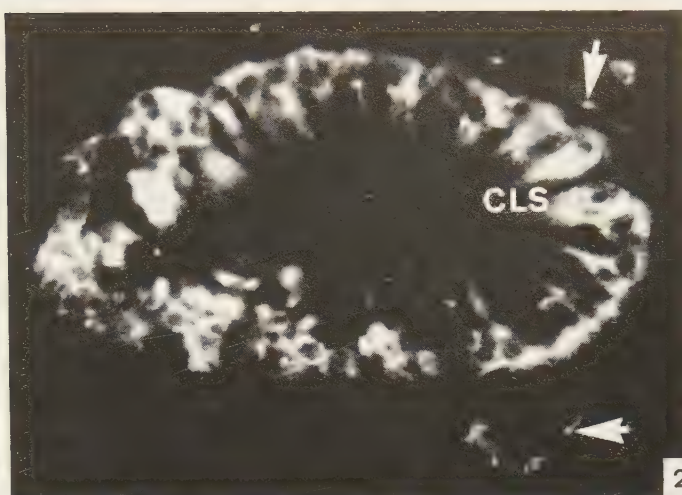


Planche XXVII

Détection des monoamines chez les embryons de *Lacerta viridis*
muralis et *vivipara*, dans les conditions naturelles et
expérimentales (Technique de Falck et Hillarp)

- Fig. 1. - *Lacerta viridis* : épiphyse distale au stade 38, dans les conditions naturelles. La fluorescence (jaune) épithéliale est déjà intense et plus étendue que chez *Lacerta vivipara* au stade embryonnaire correspondant (Planche XXV, Fig. 5). x 460.
- Fig. 2. - *Lacerta viridis* : épiphyse distale au stade 39, dans les conditions naturelles. La fluorescence (jaune) est intense et sa localisation au sein de l'épithélium est comparable à celle observée chez *Lacerta vivipara*. x 180.
- Fig. 3. - *Lacerta muralis* : épiphyse distale au stade 40, dans les conditions naturelles. Une fluorescence (jaune) intense affecte essentiellement la région basale de l'épithélium. Les afférences catécholaminergiques périépiphysaires (flèches) sont très nombreuses par rapport à ce qui est observé chez *Lacerta vivipara* (Planche XXVI, Fig. 2) et *Lacerta viridis* au stade embryonnaire équivalent. x 480.
- Fig. 4. - *Lacerta vivipara* : épiphyse distale au stade 40 après un traitement par la Réserpine : déplétion de la 5-HT de l'épithélium épiphysaire. x 260.
- Fig. 5. - *Lacerta vivipara* : épiphyse distale au stade 40 après incorporation de 5-HTP : augmentation de la fluorescence (jaune) épithéliale. x 200.

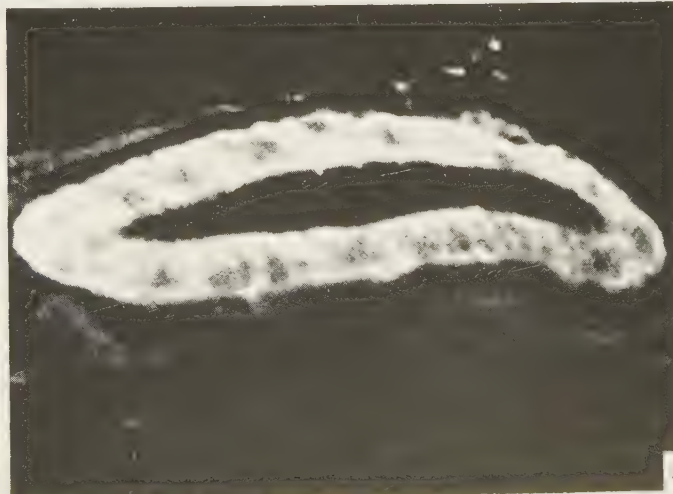
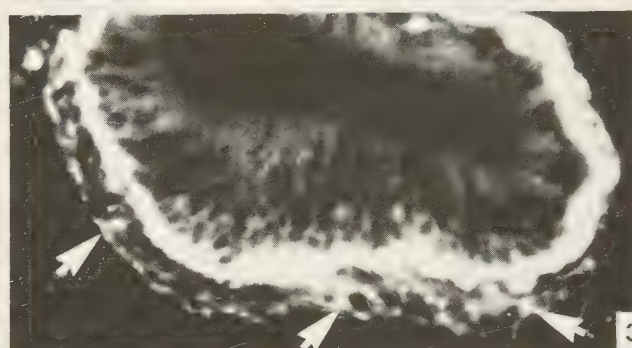


Planche XXVIII

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogenèse.
Evolution de l'intensité des réactions radioautographiques en
fonction de la durée de l'intervalle injection-sacrifice.

- Fig. 1. - 15 minutes après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 2. - 30 minutes après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 3. - 45 minutes après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 4. - 2 heures après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 5. - 3 heures après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 6. - 4 heures après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 7. - 5 heures après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 8. - 10 heures après l'injection de 5-HTP-³H
Fig. 9. - 18 heures après l'injection de 5-HTP-³H

Remarquer l'augmentation de la radioactivité épithéliale depuis 15 minutes jusqu'à 4 heures où le marquage atteint un maximum d'intensité. A partir de 4 heures, la radioactivité épithéliale diminue et à 18 heures l'épithélium épiphysaire est pratiquement dépourvu de marquage.

Exposition 32 jours ; grandissement identique pour toutes les figures.

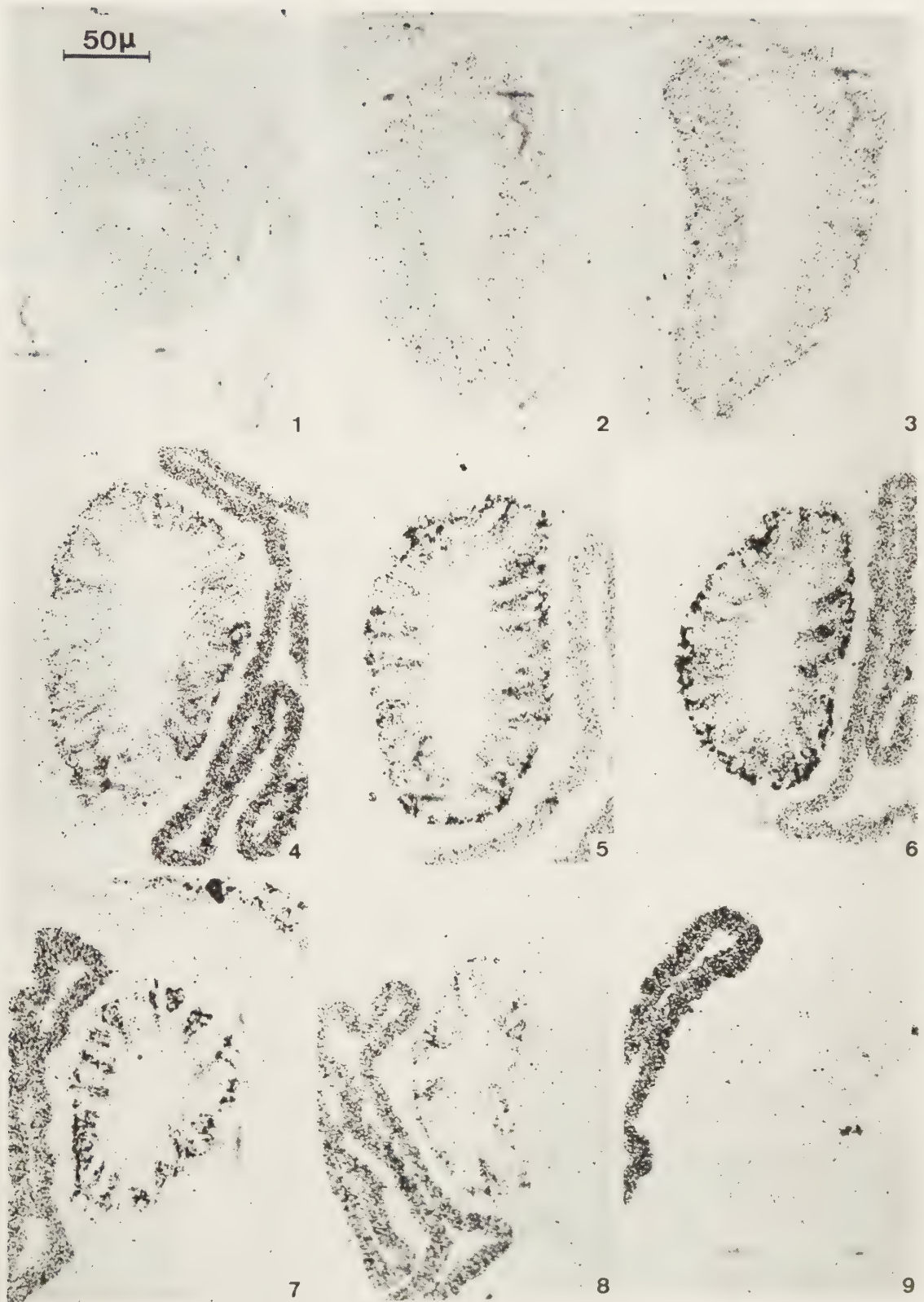


Planche XXIX

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogénèse.
Localisation des réactions radioautographiques spécifiques
au niveau de l'épithélium épiphysaire.

Fig. 1. - 15 minutes après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 2. - 30 minutes après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 3. - 45 minutes après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 4. - 1 heure après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 5. - 3 heures après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 6. - 4 heures après l'injection de 5-HTP-³H

Quel que soit l'intervalle de temps injection-sacrifice, les réactions radioautographiques spécifiques se localisent dans des cellules présentant une affinité tinctoriale élevée au bleu de toluidine et correspondant aux cellules de la lignée sensorielle (CLS). Au niveau des cellules interstitielles (CI) et des neurones sensoriels (CG), le marquage radioactif est toujours très faible.

Exposition 32 jours ; coloration au bleu de toluidine ; grandissement identique pour toutes les figures.

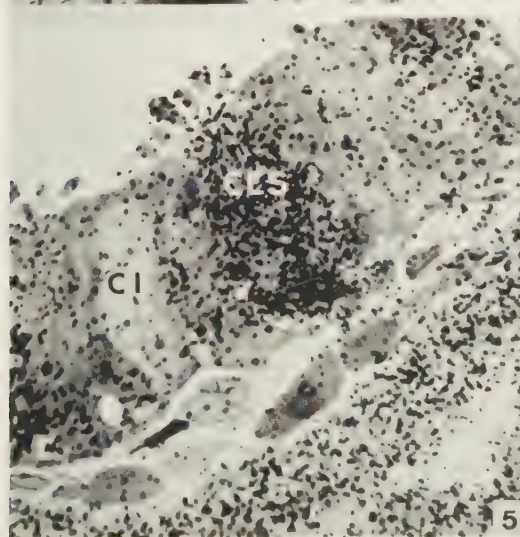
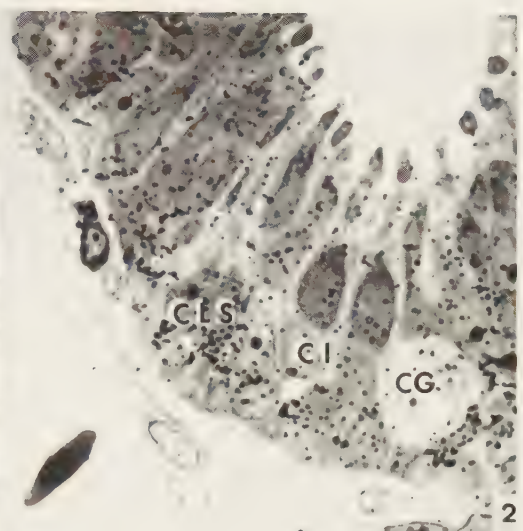
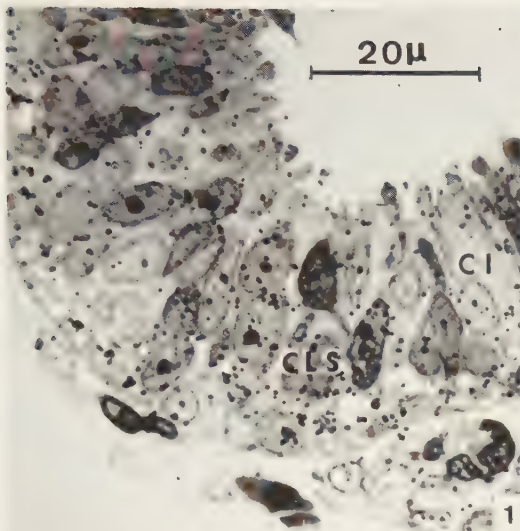


Planche XXX

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogenèse.
Localisation des réactions radioautographiques spécifiques
au niveau de l'épithélium épiphysaire.

Fig. 1. - 5 heures après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 2. - 7 heures après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 3. - 10 heures après l'injection de 5-HTP-³H

Fig. 4. - 12 heures après l'injection de 5-HTP-³H

Les réactions radioautographiques spécifiques affectent toujours les cellules de la lignée sensorielle (CLS) ; CI : cellules interstitielles de type épendymaire ; CG : neurones sensoriels.

Fig. 5. - 15 heures après l'injection de 5-HTP-³H. Quelques grains d'argent (flèche) subsistent encore dans les pédicules basaux des cellules de la lignée sensorielle (CLS).

Fig. 6. - 18 heures après l'injection de 5-HTP-³H. Aucune trace de radioactivité n'est décelée dans l'épithélium épiphysaire.

Exposition 32 jours, coloration au bleu de toluidine ; grandissement identique pour toutes les figures.

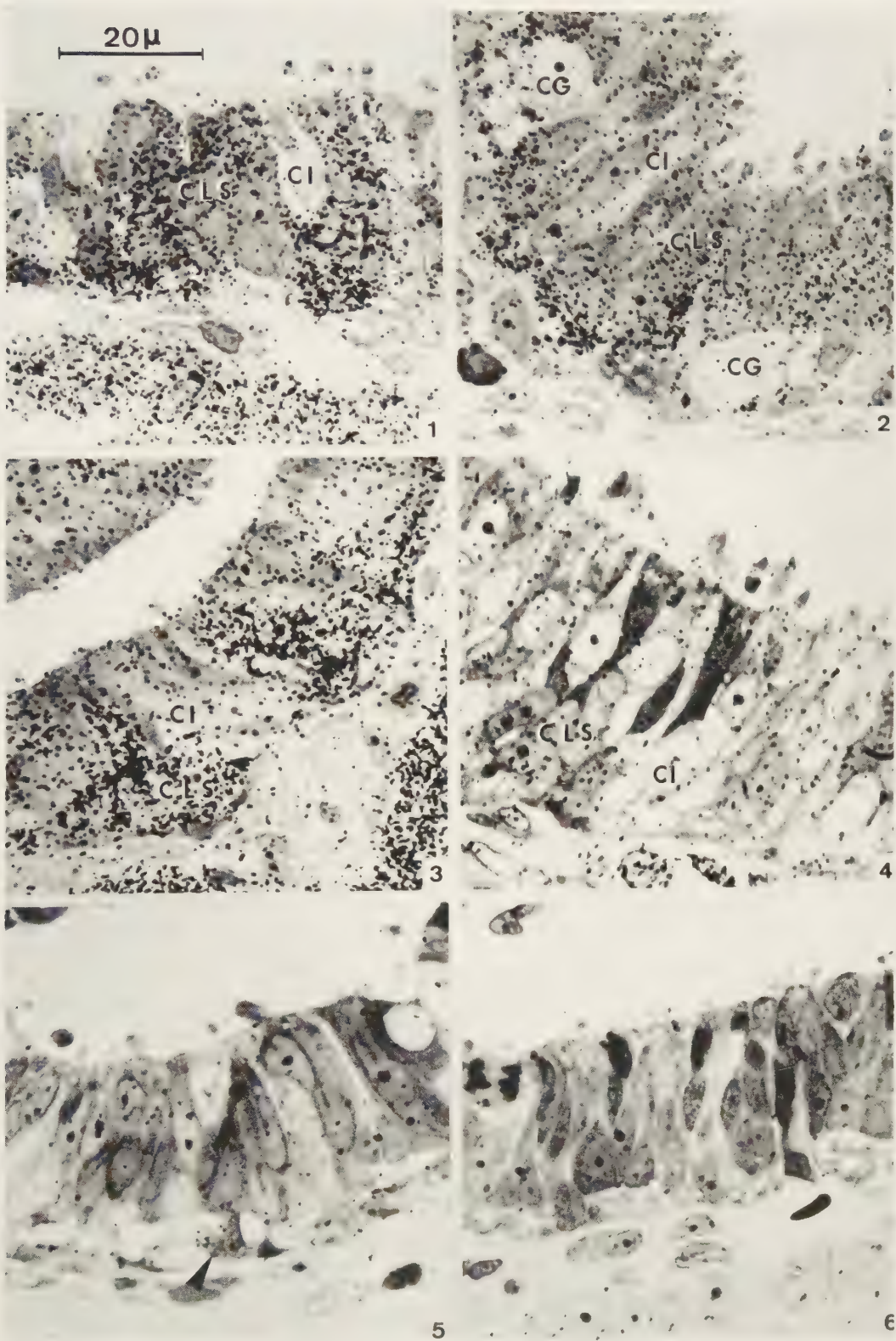


Planche XXXI

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogenèse
après des traitements pharmacologiques.
Intensité des réactions radioautographiques.

Fig. 1 et 3. - Individus de référence, sacrifiés respectivement 3 et 4 heures après l'injection de 5-HTP-³H.

Fig. 2 et 4. - Individus traités préalablement au Ro₄-4602 et sacrifiés respectivement 3 et 4 heures après l'injection de 5-HTP-³H.

Après inhibition des activités 5-hydroxytryptophane-décarboxylasiques, l'épiphyse incorpore très faiblement le précurseur radioactif.

Fig. 5, 7, 9 et 11. - Individus de référence, sacrifiés respectivement 5, 8, 10 et 18 heures après l'injection de 5-HTP-³H.

Fig. 6, 8, 10 et 12. - Individus traités préalablement au Nialamide et sacrifiés respectivement 5, 8, 10 et 18 heures après l'injection de 5-HTP-³H.

Après inhibition des activités monoamine oxydasiques, le marquage radioactif est nettement plus intense dans l'épiphyse (Fig. 4, 6 et 8).

Exposition 32 jours ; grandissement identique pour toutes les figures.

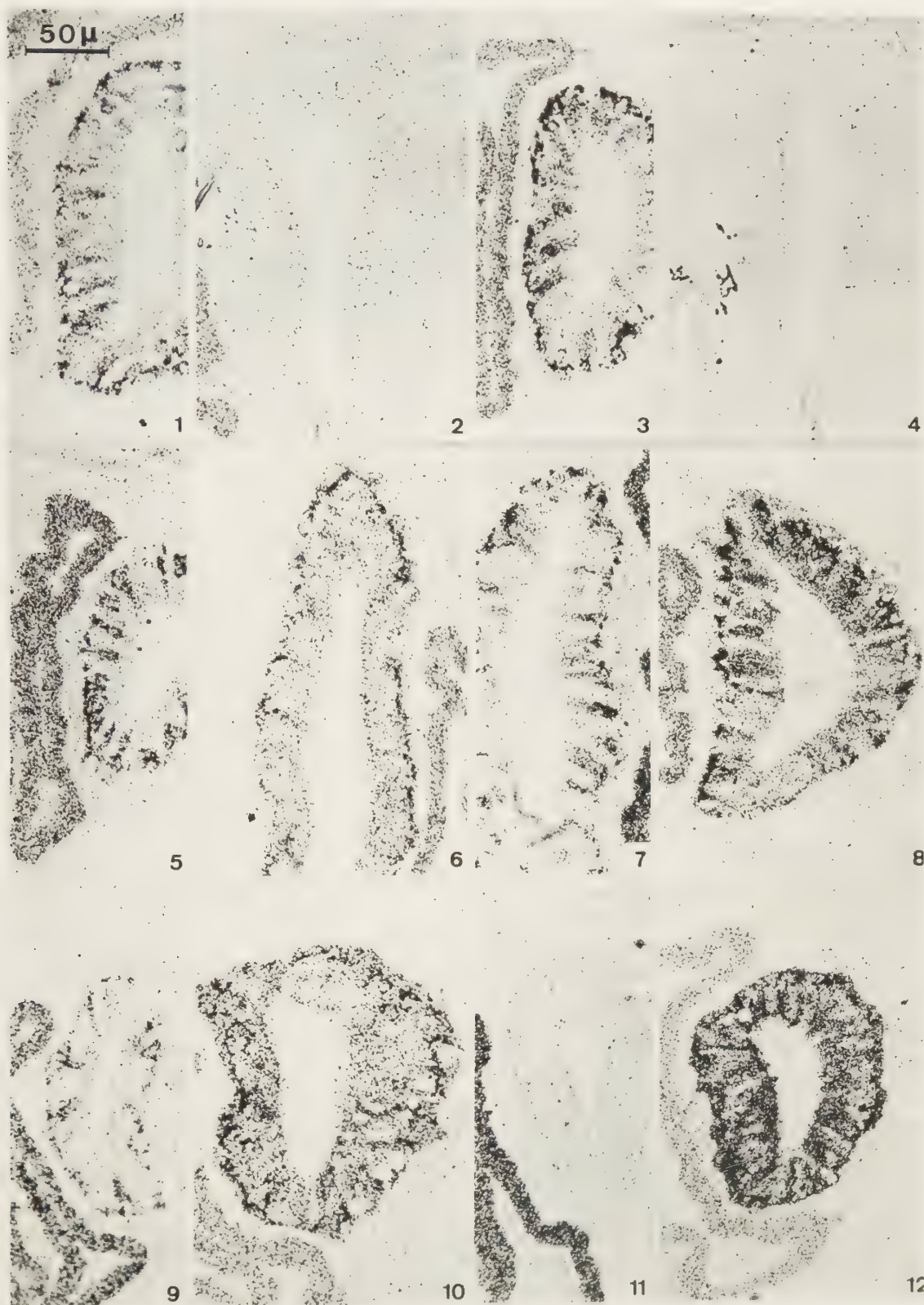


Planche XXXII

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogenèse après des traitements pharmacologiques. Localisation des réactions radioautographiques au niveau de l'épithélium épiphysaire.

Fig. 1. - Pré-traitement au Ro₄-4602, puis injection de 5-HTP-³H 3 heures avant le sacrifice.

Fig. 2. - Pré-traitement au Ro₄-4602, puis injection de 5-HTP-³H 4 heures avant le sacrifice.

Les grains d'argent ont une répartition diffuse dans l'ensemble de l'épithélium. Ils sont sensiblement plus nombreux dans les CLS ; CI : cellules interstitielles de type épendymaire.

Fig. 3. - Pré-traitement au Nialamide, puis injection de 5-HTP-³H 5 heures avant le sacrifice.

Fig. 4. - Pré-traitement au Nialamide, puis injection de 5-HTP-³H 8 heures avant le sacrifice.

Fig. 5. - Pré-traitement au Nialamide, puis injection de 5-HTP-³H 10 heures avant le sacrifice.

Fig. 6. - Pré-traitement au Nialamide, puis injection de 5-HTP-³H 18 heures avant le sacrifice.

Les réactions radioautographiques, très intenses, affectent les cellules de la lignée sensorielle (CLS) sur toute leur hauteur. Les grains d'argent, dans les cellules interstitielles de type épendymaire (CI), sont plus nombreux qu'après simple incorporation de 5-HTP-³H (comparer avec les figures des planches XXIX et XXX). Le marquage radioactif est toujours très faible au niveau des neurones sensoriels (CG).

Exposition 32 jours ; coloration au bleu de toluidine ; grandissement identique pour toutes les figures.

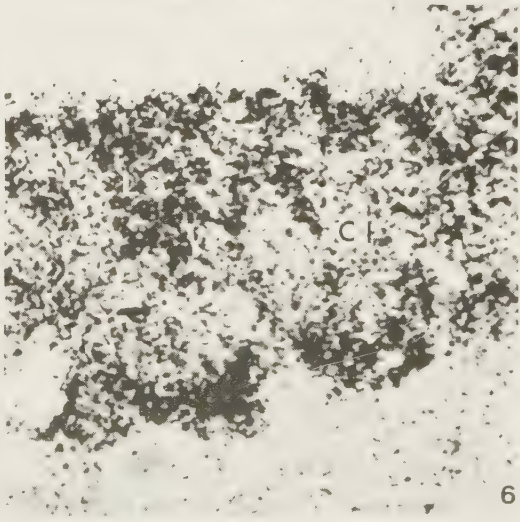
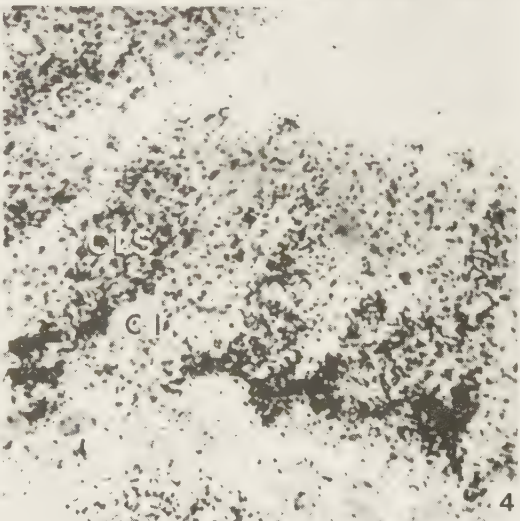
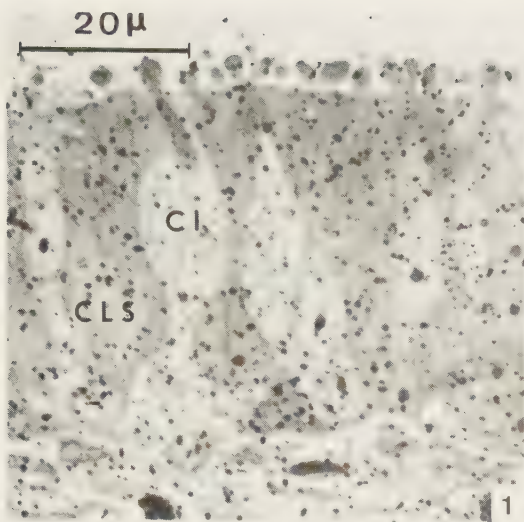


Planche XXXIII

Incorporation de 5-HTP-³H au cours de l'ontogenèse.

Evolution de l'intensité des réactions radioautographiques.

Fig. 1. - Stade 37 : injection intraventriculaire de 5-HTP-³H. Les réactions radioautographiques spécifiques (flèches) sont localisées à la base de l'épithélium épiphysaire (E). On note également la présence de réactions radioautographiques non spécifiques au niveau de l'épithélium épiphysaire (E) et du conjonctif périphérique (C). Comparer l'importance de ces dernières réactions avec celles obtenues après injections intrapéritonéales du précurseur (Fig. 3 et 4 de cette Planche et Fig. 1 à 4 de la Planche XXXIV). Quant au sac dorsal (sd), il incorpore beaucoup plus que l'épiphyse le 5-HTP-³H, mais les réactions radioautographiques y sont diffuses.

Fig. 2. - Stade 39 : injection intraventriculaire de 5-HTP-³H. Les réactions radioautographiques spécifiques (flèches), localisées à la base de l'épithélium épiphysaire (E) sont plus intenses qu'au stade 37. Remarquer également l'importance des réactions radioautographiques diffuses, non spécifiques, au niveau de l'épithélium épiphysaire (E), du conjonctif périphérique (C) et de la paraphyse (Pa).

Fig. 3. - Stade 35 : injection intrapéritonéale de 5-HTP-³H. Absence de réaction radioautographique spécifique au niveau de l'épithélium épiphysaire (E).

Fig. 4. - Stade 36 : injection intrapéritonéale de 5-HTP-³H. Apparition des réactions radioautographiques spécifiques (flèches) à la base de l'épithélium épiphysaire (E). Les réactions sont plus intenses au niveau de l'épiphyse distale (Ed) qu'au niveau de l'épiphyse moyenne (Em) et proximale (Ep).

Exposition 32 jours ; grandissement identique pour toutes les figures.

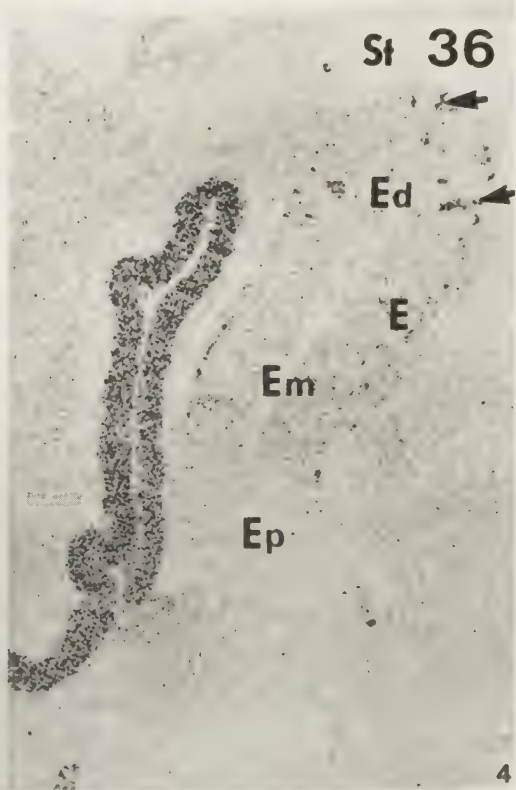
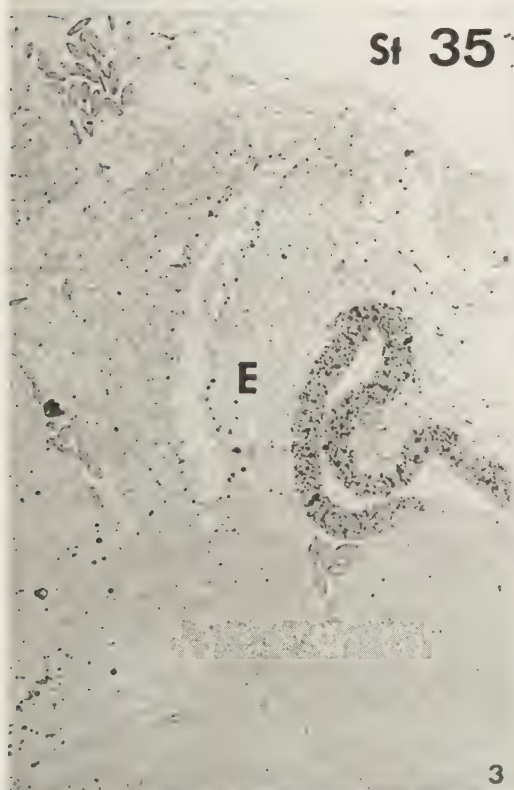
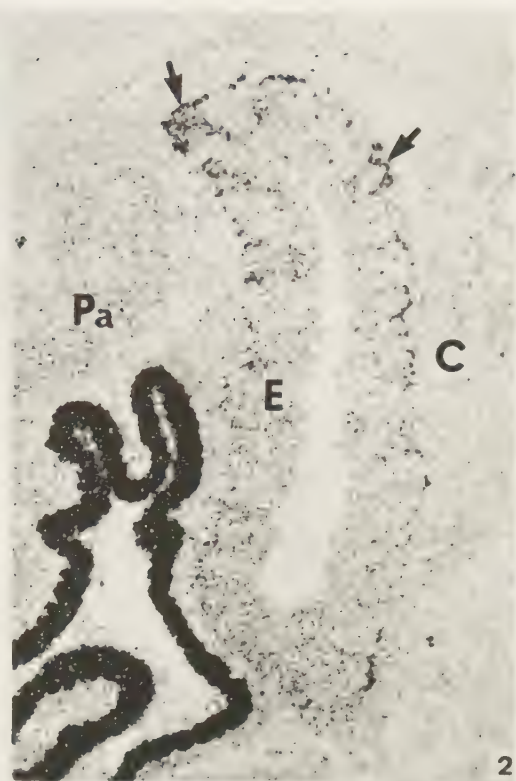
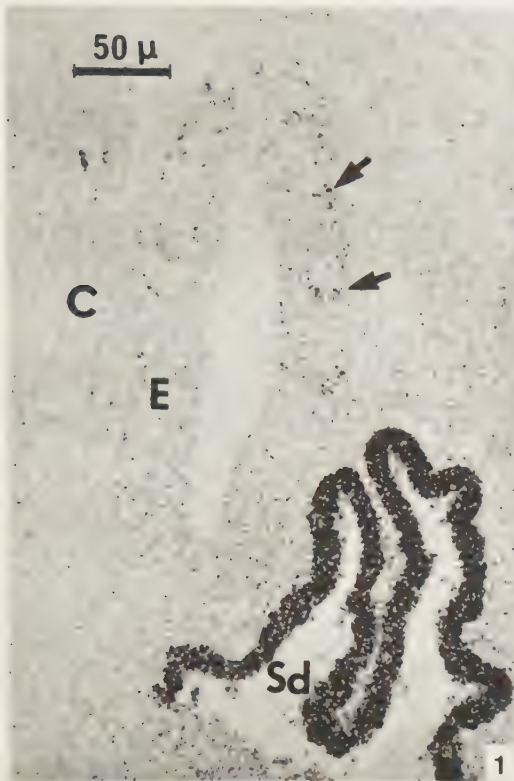


Planche XXXIV

Incorporation de 5-HTP-³H au cours de l'ontogenèse
et 3 jours après la naissance. Evolution de l'intensité des
réactions radioautographiques.

- Fig. 1. - Stade 38 : injection intrapéritonéale de 5-HTP-³H. Les réactions radioautographiques spécifiques (flèches) sont, à la base de l'épithélium, plus étendues qu'au stade 36.
- Fig. 2. - Stade 39 : injection intrapéritonéale de 5-HTP-³H. Remarquer la progression de l'intensité des réactions radioautographiques spécifiques (flèches) à la base de l'épithélium, par rapport au stade précédent.
- Fig. 3. - Stade 40 : injection intrapéritonéale de 5-HTP-³H. On constate une nette augmentation du marquage (flèches) par rapport aux stades précédents. La rétention des indolamines tritiées semble s'effectuer au niveau des cellules de la lignée sensorielle (CLS).
- Fig. 4. - 3 jours : injection intrapéritonéale de 5-HTP-³H. L'intensité des réactions radioautographiques spécifiques (flèches) est élevée. Le sac dorsal (sd) n'incorpore plus très fortement le précurseur radioactif.
- Exposition 32 jours ; grandissement identique pour toutes les figures.

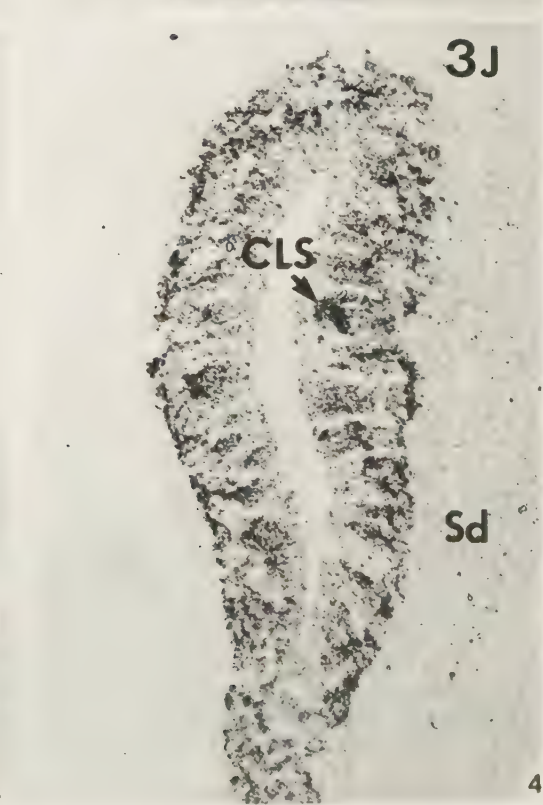
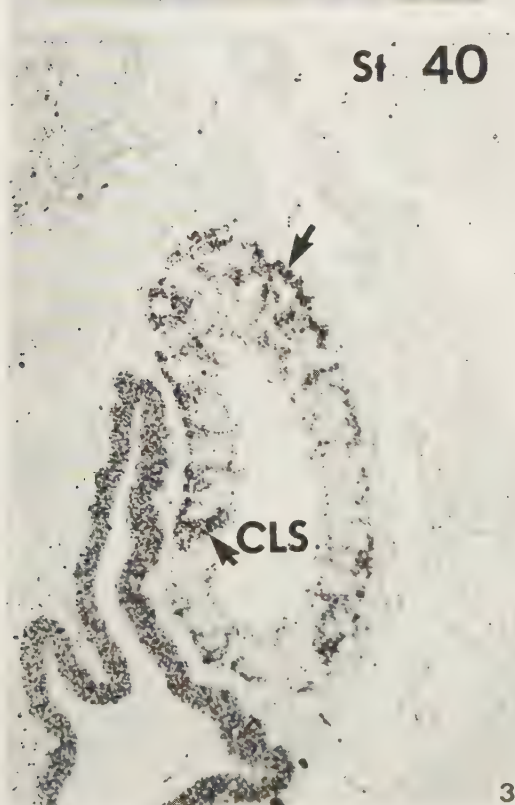


Planche XXXV

Incorporation de 5-HTP-³H au cours de l'ontogenèse.

Localisation des réactions radioautographiques spécifiques
au niveau de l'épithélium épiphysaire.

- Fig. 1. - Epiphyse distale au stade 35 : la répartition des grains d'argent est diffuse dans l'ensemble de l'épithélium épiphysaire. CI : cellule interstitielle de type épendymaire ; CLS : cellules de la lignée sensorielle ; lb : lamelle basale ; L : lumière.
- Fig. 2. - Epiphyse distale au stade 36 : les concentrations de grains denses apparaissent au niveau des pédicules basaux et du cytoplasme périnucléaire des cellules les plus sombres (cellules de la lignée sensorielle = CLS) ; CI : cellule interstitielle de type épendymaire ; CG : neurone sensoriel.
- Fig. 3. - Epiphyse distale au stade 37 : l'intensité des réactions radioautographiques spécifiques progresse faiblement au niveau des cellules de la lignée sensorielle (CLS). CI : cellule interstitielle de type épendymaire.
- Fig. 4. - Epiphyse distale au stade 38 : les grains d'argent sont plus nombreux au niveau des pédicules basaux et du cytoplasme périnucléaire des cellules de la lignée sensorielle (CLS). Dans les cellules interstitielles de type épendymaire (CI), les grains d'argent sont toujours très rares.

Exposition 32 jours ; coloration au bleu de toluidine ; grandissement identique pour toutes les figures.

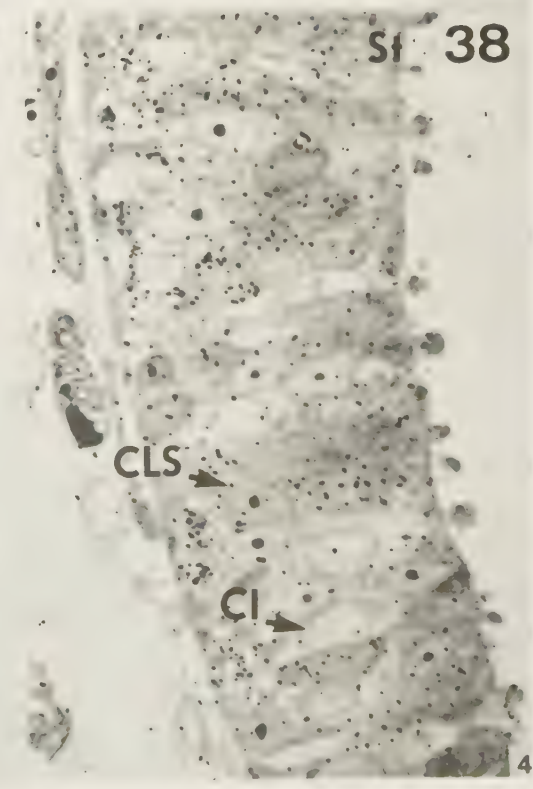
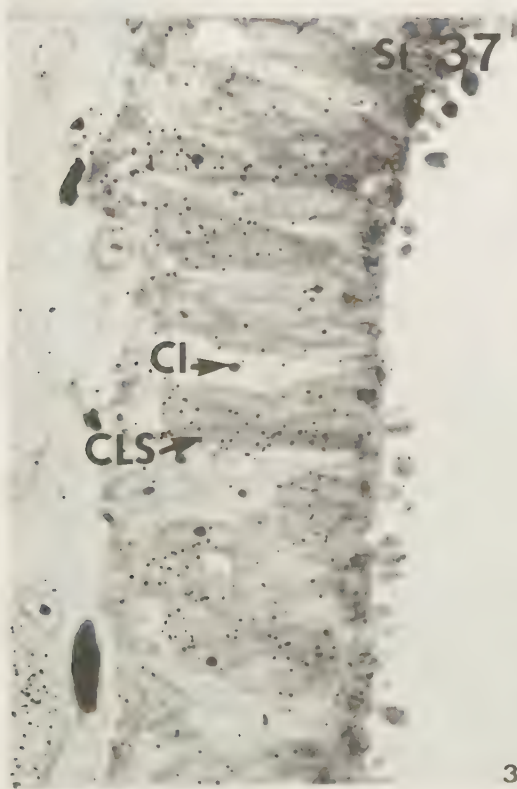
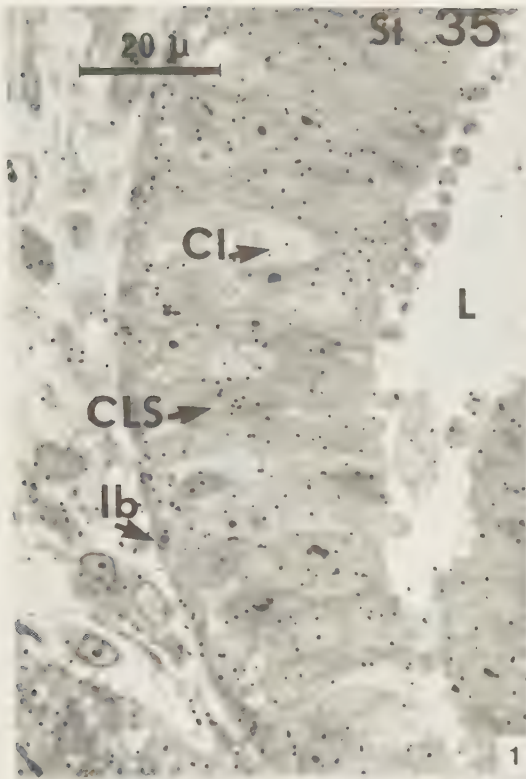


Planche XXXVI

Incorporation de 5-HTP-³H au cours de l'ontogenèse et 3 jours
après la naissance. Localisation des réactions radioautographiques
spécifiques au niveau de l'épithélium épiphysaire.

- Fig. 1. - Epiphyse distale au stade 39 : l'intensité des réactions radioautographiques spécifiques progresse nettement au niveau des pédicules basaux et des cytoplasmes périnucléaires des cellules de la lignée sensorielle (CLS). Remarquer la répartition diffuse des grains d'argent au niveau du sac dorsal (Sd) ; CI : cellules interstitielles de type épendymaire.
- Fig. 2. - Epiphyse distale au stade 40 : les réactions radioautographiques spécifiques, très intenses à ce stade de l'embryogenèse, sont localisées dans les cellules de la lignée sensorielle (CLS₁) au niveau des pédicules basaux, des cytoplasmes périnucléaires et des segments internes, sur toute leur hauteur. Néanmoins, certaines cellules de la lignée sensorielle (CLS₂) montrent de faibles réactions radioautographiques diffuses, d'intensité comparable à celle observée au niveau des cellules interstitielles de type épendymaire (CI). Même grandissement que pour la Fig. 1.
- Fig. 3. - Epiphyse d'un individu âgé de 3 jours : les réactions radioautographiques spécifiques sont localisées au niveau des cellules de la lignée sensorielle (CLS), sur toute leur hauteur.
- Exposition 32 jours ; coloration au bleu de toluidine.

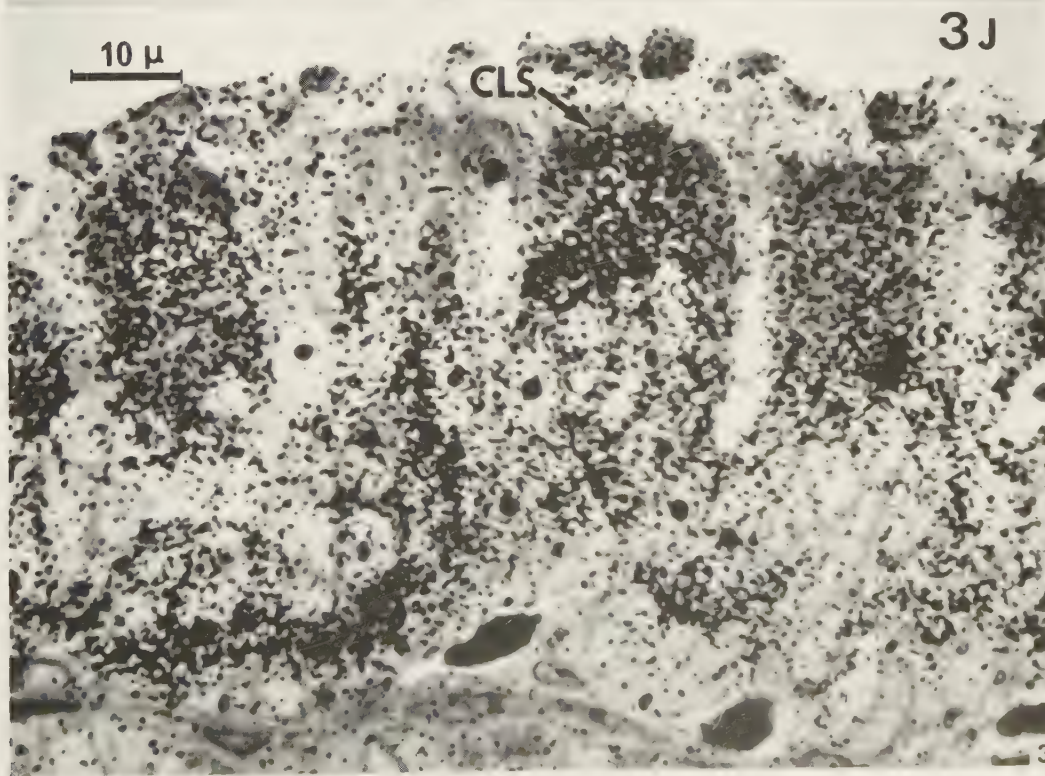
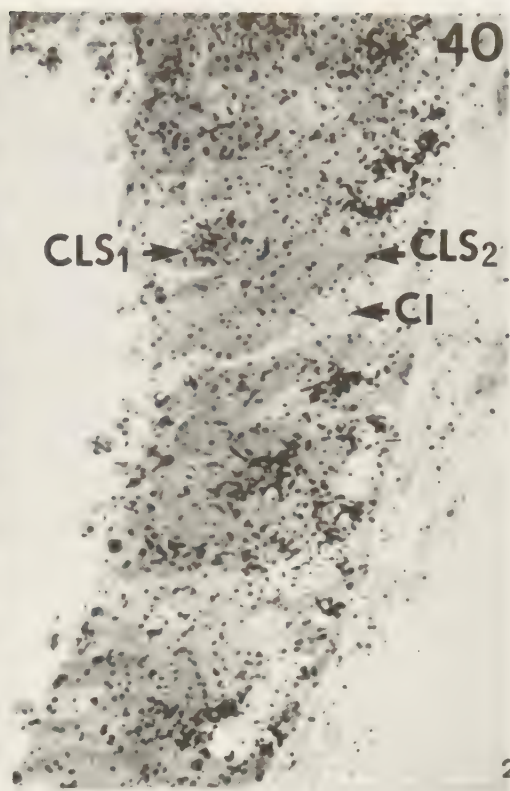
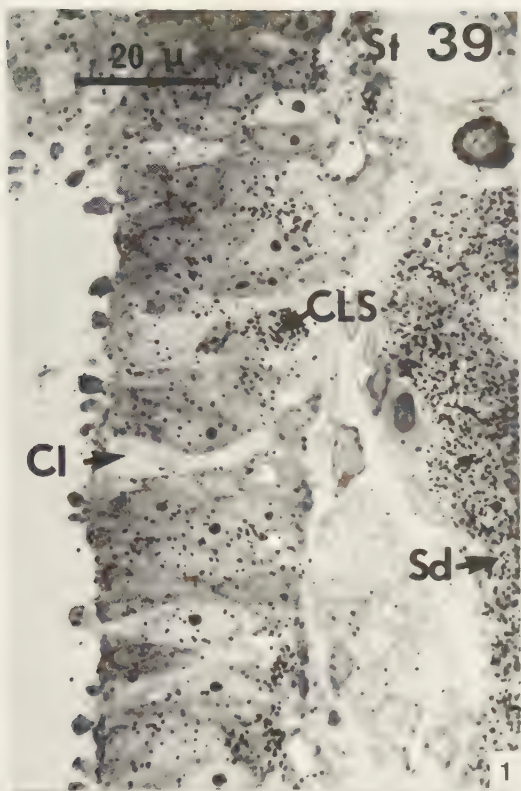


Planche XXXVII

Détection des activités monoamine oxydasiques au cours de
l'ontogenèse (Technique de Glennier et al.).

- Fig. 1. - Stade 34 : quelques grains de formazan (flèche) sont essentiellement localisés à l'apex de l'épithélium épiphysaire (E).
- Fig. 2. - Stade 35 : les grains de formazan sont plus nombreux qu'au stade précédent à l'apex de l'épithélium épiphysaire (E).
- Fig. 3. - Stade 35 : fort grandissement montrant la localisation des grains de formazan dans le tiers apical de l'épithélium (E), en bordure de la lumière épiphysaire (L). Quelques granulations éparses sont également décelées à la base de l'épithélium.
- Fig. 4. - Stade 36 : la densité des grains de formazan augmente essentiellement à l'apex de l'épithélium (E). Une activité histoenzymologique est également visualisée à la base de l'épithélium.
- Fig. 5. - Stade 37 : les dépôts de formazan ont une répartition identique à celle observée au stade précédent mais ils sont quantitativement plus importants ; E : épithélium épiphysaire.
- Fig. 6. - Stade 38 : la réaction histoenzymologique, matérialisée par des dépôts de formazan ou par des flaques de teinte violet-pourpre, est très intense à l'apex de l'épithélium (E). On note toujours la présence de granulations à la base de l'épithélium.

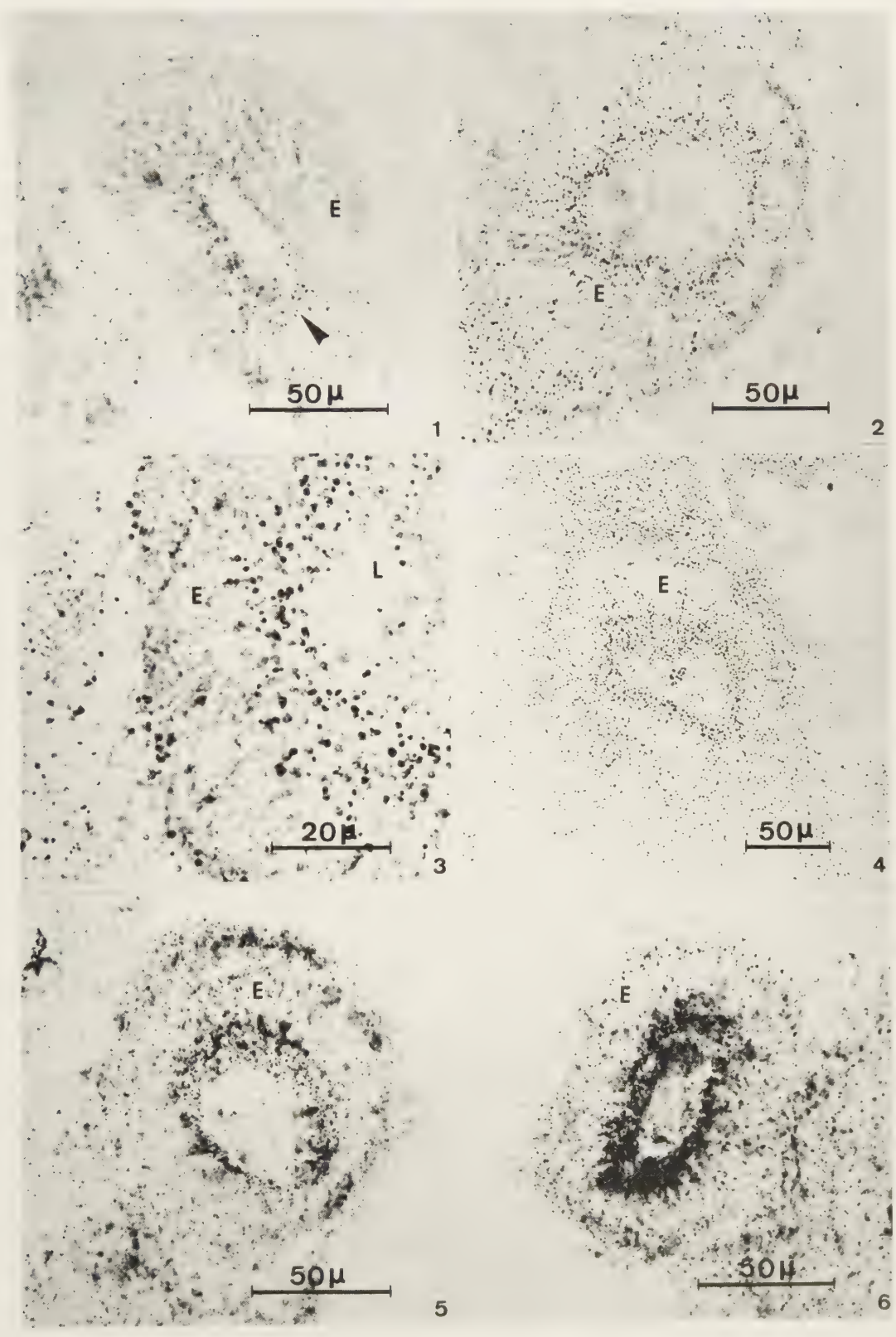


Planche XXXVIII

Détection des activités monoamine oxydasiques au cours de
l'ontogenèse (Technique de Glenner et al.).

Fig. 1 et 2. - Stade 39 : les grains de formazan sont localisés dans la moitié apicale de l'épithélium épiphysaire (E) et une coloration violet-pourpre affecte la moitié inférieure.

Fig. 3 et 4. - Stade 40 : la localisation et l'intensité de la réaction histoenzymologique sont comparables à celles observées au stade 39.

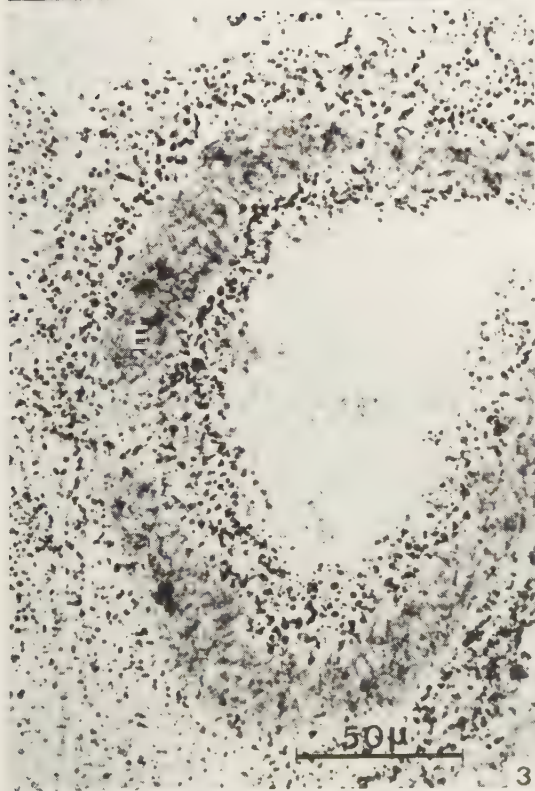


Planche XXXIX

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 36 de l'embryogenèse.

Localisation cellulaire du marquage radioactif.

Fig. 1. - Les concentrations de grains d'argent sont localisées au niveau des prolongements basaux (Pb) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires, là où sont stockés des grains denses de sécrétion (GD). Dans les cellules interstitielles de type épendymaire (CI), les faisceaux de prolongements nerveux (fn) et les espaces péricapillaires (ep), les grains d'argent sont rares.

Fig. 2. - Grandissement plus élevé de pédicules basaux de photorécepteurs rudimentaires sécrétoires, montrant la localisation des grains d'argent au niveau des concentrations de grains denses (GD).

Exposition 52 jours.

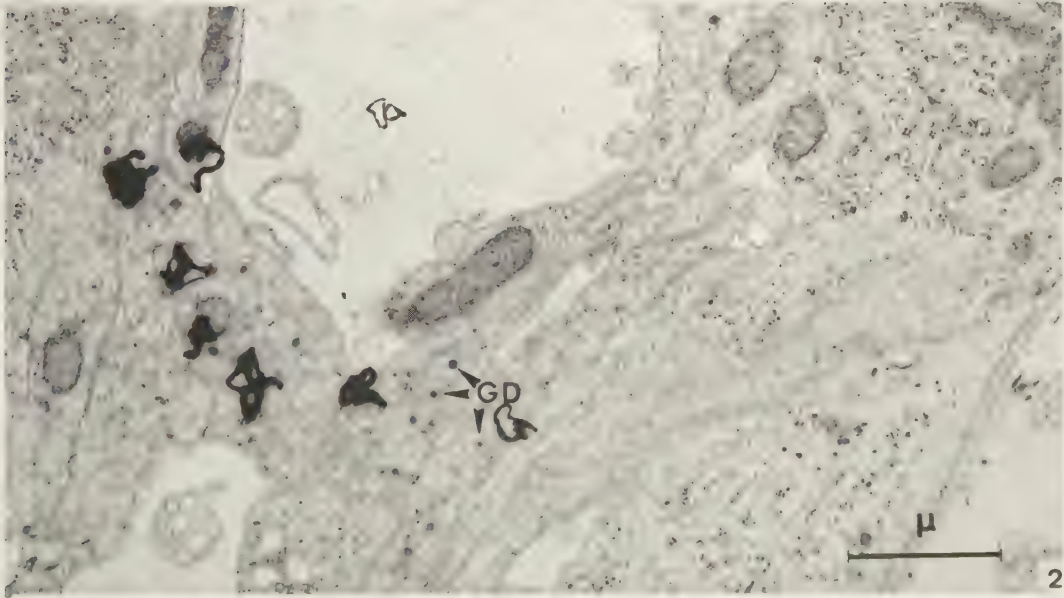
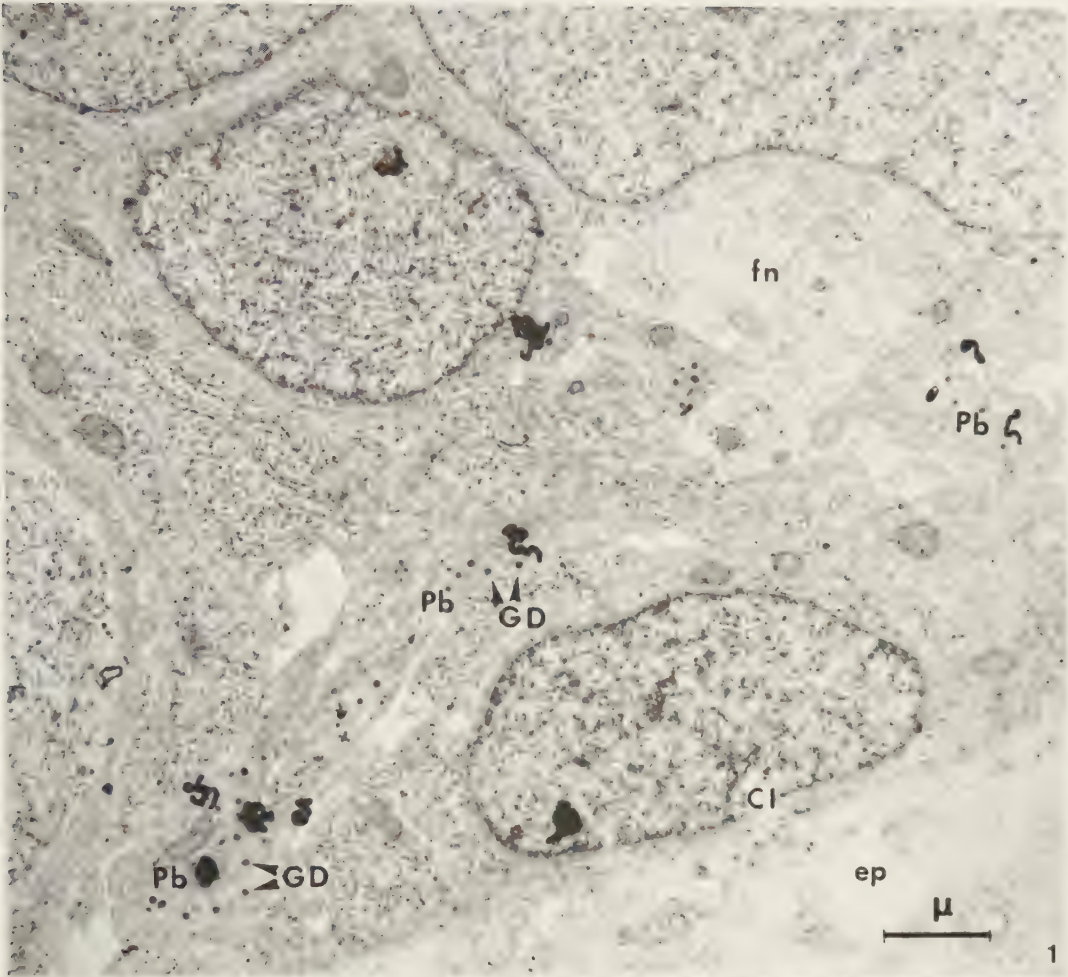


Planche XL

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 37 de l'embryogenèse.

Localisation cellulaire du marquage radioactif.

- Fig. 1. - Les grains d'argent, plus nombreux qu'au stade précédent, sont toujours localisés de façon spécifique au niveau des prolongements basaux (Pb) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires. Dans les cellules interstitielles de type épendymaire (CI) les grains d'argent sont toujours très rares.
- Fig. 2. - Grandissement plus élevé de pédicules basaux de photorécepteurs rudimentaires sécrétoires, montrant l'association fréquente des grains d'argent aux grains denses de sécrétion (GD).
- Exposition 52 jours.

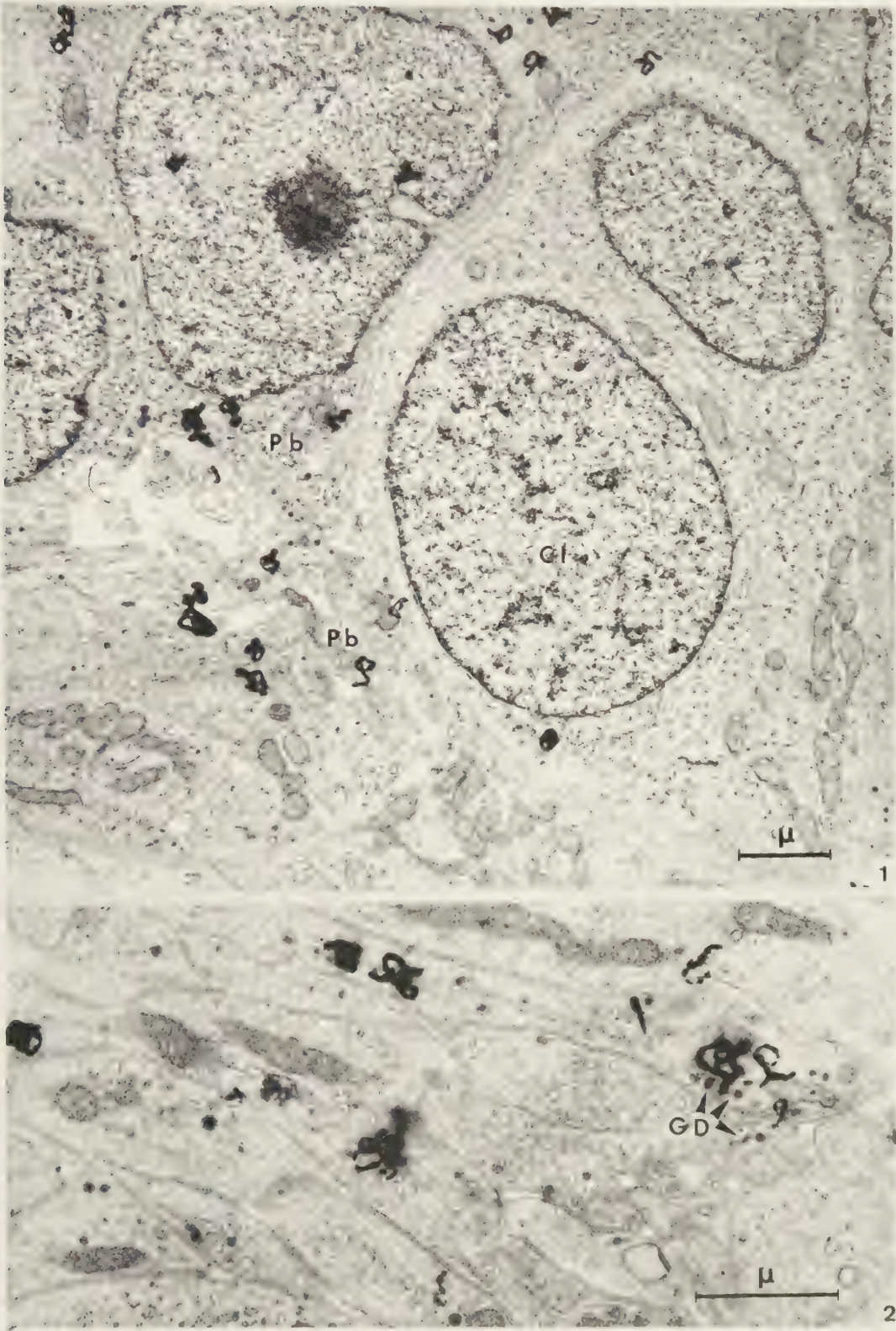


Planche XLI

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 38 de l'embryogenèse.

Localisation cellulaire du marquage radioactif.

- Fig. 1. - L'augmentation de la radioactivité s'effectue dans les pédicules basaux (Pb) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires, parallèlement à l'accroissement du nombre des grains denses (GD). Les grains d'argent dans les cellules interstitielles de type épithéliale (CI) sont épars.
- Fig. 2. - Grandissement plus élevé d'un pédicule basal de photorécepteur rudimentaire sécrétoire, montrant l'association fréquente des grains d'argent à des groupes de grains denses (GD) ou à des grains denses isolés.

Exposition 52 jours.

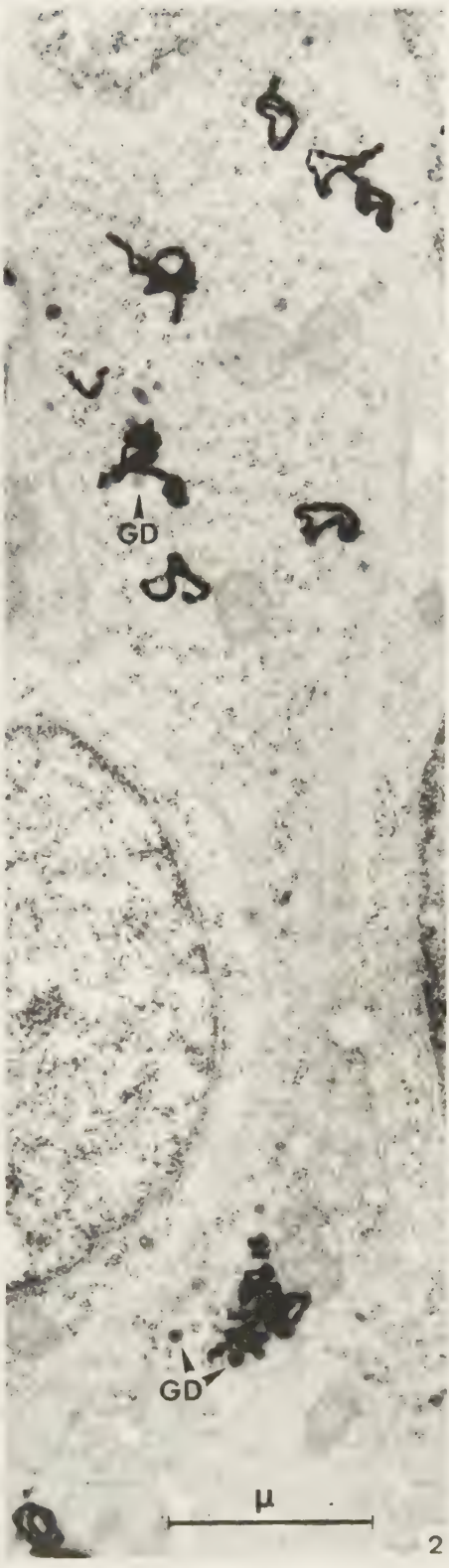
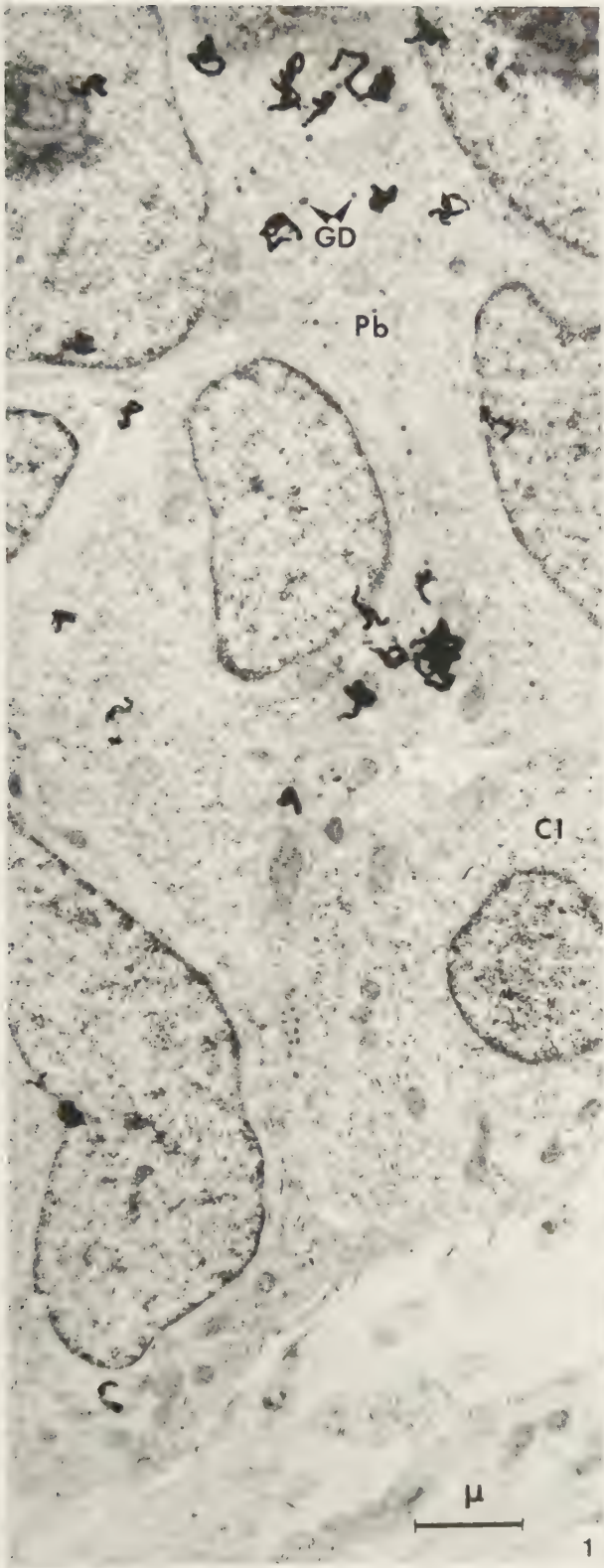


Planche XLII

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 39 de l'embryogenèse.

Localisation cellulaire du marquage radioactif.

- Fig. 1. - Un marquage radioactif intense affecte les pédicules basaux (Pb) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires. Dans les cellules interstitielles du type épendymaire (CI), les grains d'argent sont rares. Un marquage diffus affecte également le noyau (N) de certains photorécepteurs rudimentaires sécrétoires.
- Fig. 2. - L'augmentation de la radioactivité s'effectue au niveau des zones de concentrations des grains denses (GD) d'origine golgienne, plus nombreux qu'au stade précédent.

Exposition 52 jours.

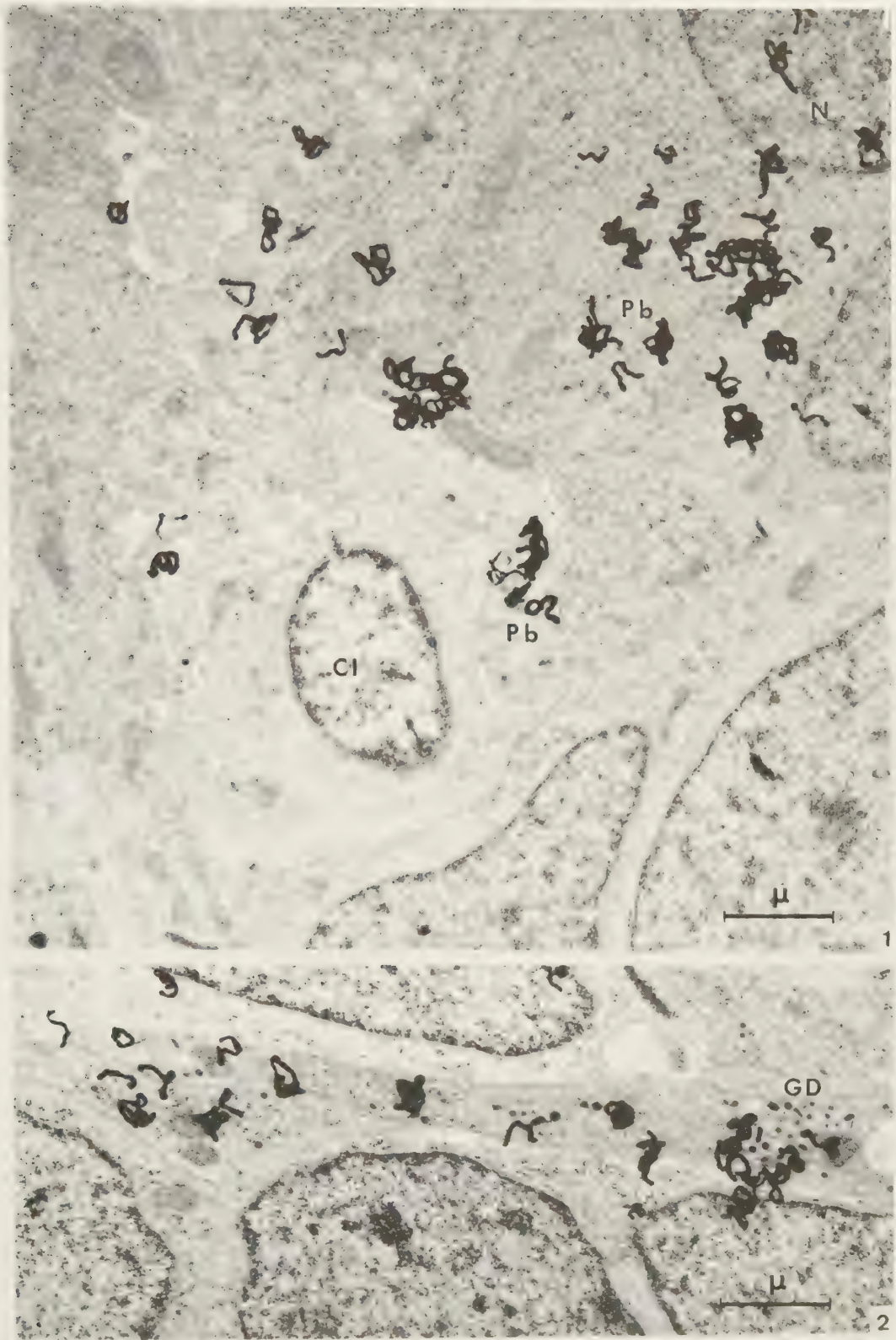


Planche XLIII .

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogénèse.

Localisation cellulaire du marquage radioactif.

Fig. 1. - Les grains d'argent, peu nombreux au niveau de l'ellipsoïde (EL) faisant saillie dans la lumière épiphysaire (L), sont essentiellement associés à des mitochondries (m).

Fig. 2. - Au niveau du myofide (My), contenant l'appareil de Golgi (G), des mitochondries (m) de l'ellipsoïde, des formations ergastoplasmiques (Er) et ribosomales (r), les grains d'argent sont le plus fréquemment associés à des grains denses (GD) relativement nombreux ou à des mitochondries ; CI : cellule interstitielle de type épendymaire ; Pi : pigment.

Exposition 52 jours.

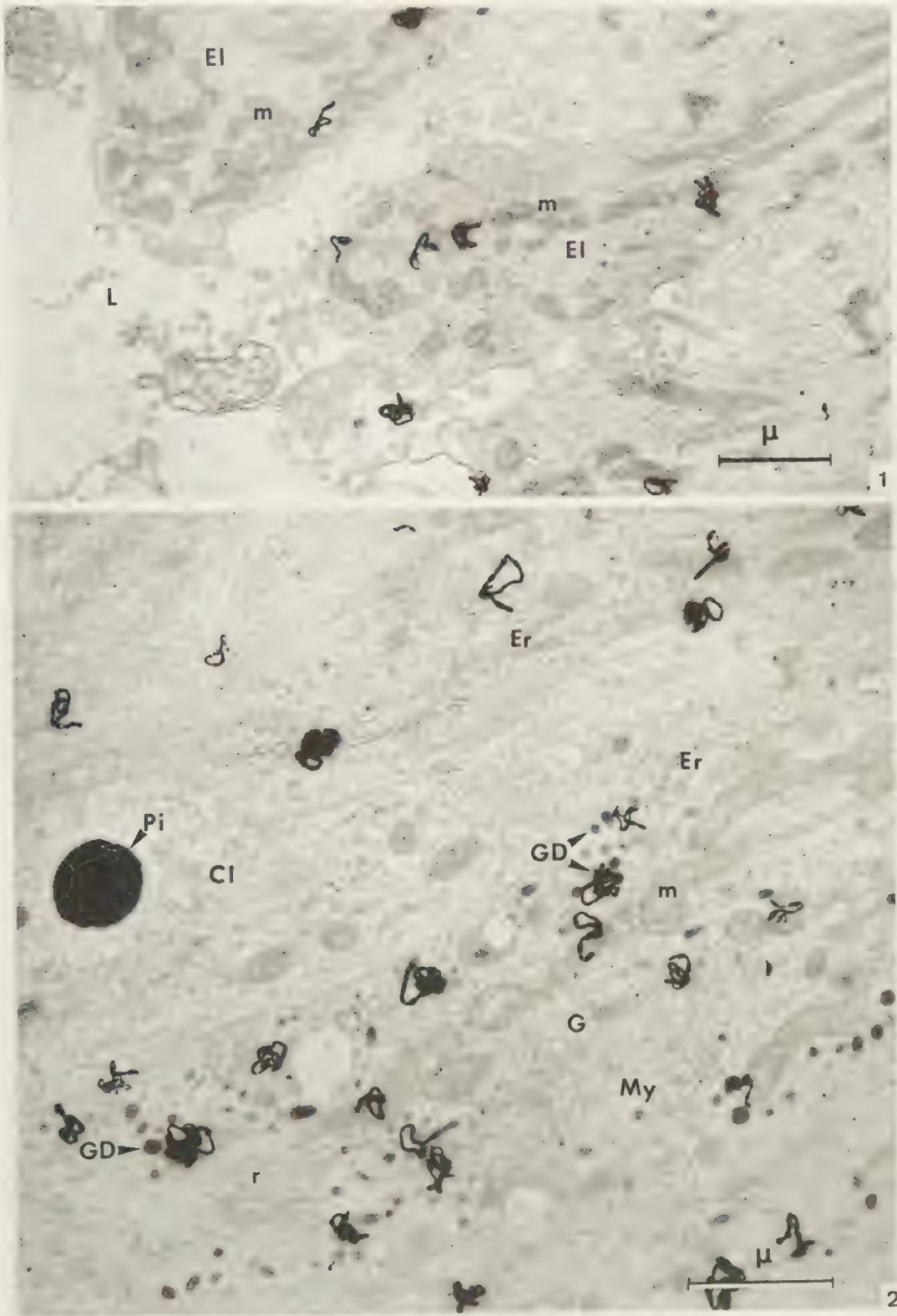


Planche XLIV

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogenèse.

Localisation cellulaire du marquage radioactif.

Electronographie effectuée au niveau des myofides (My), des zones supranucléaires (Sp) et des corps cellulaires (Cc) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires. Les réactions radioautographiques sont essentiellement superposées à des groupes de grains denses (GD) ou à des grains denses isolés. Les cellules interstitielles de type épendymaire (CI) sont pratiquement dépourvues de marquage ; G : appareil de Golgi.

Exposition 52 jours.

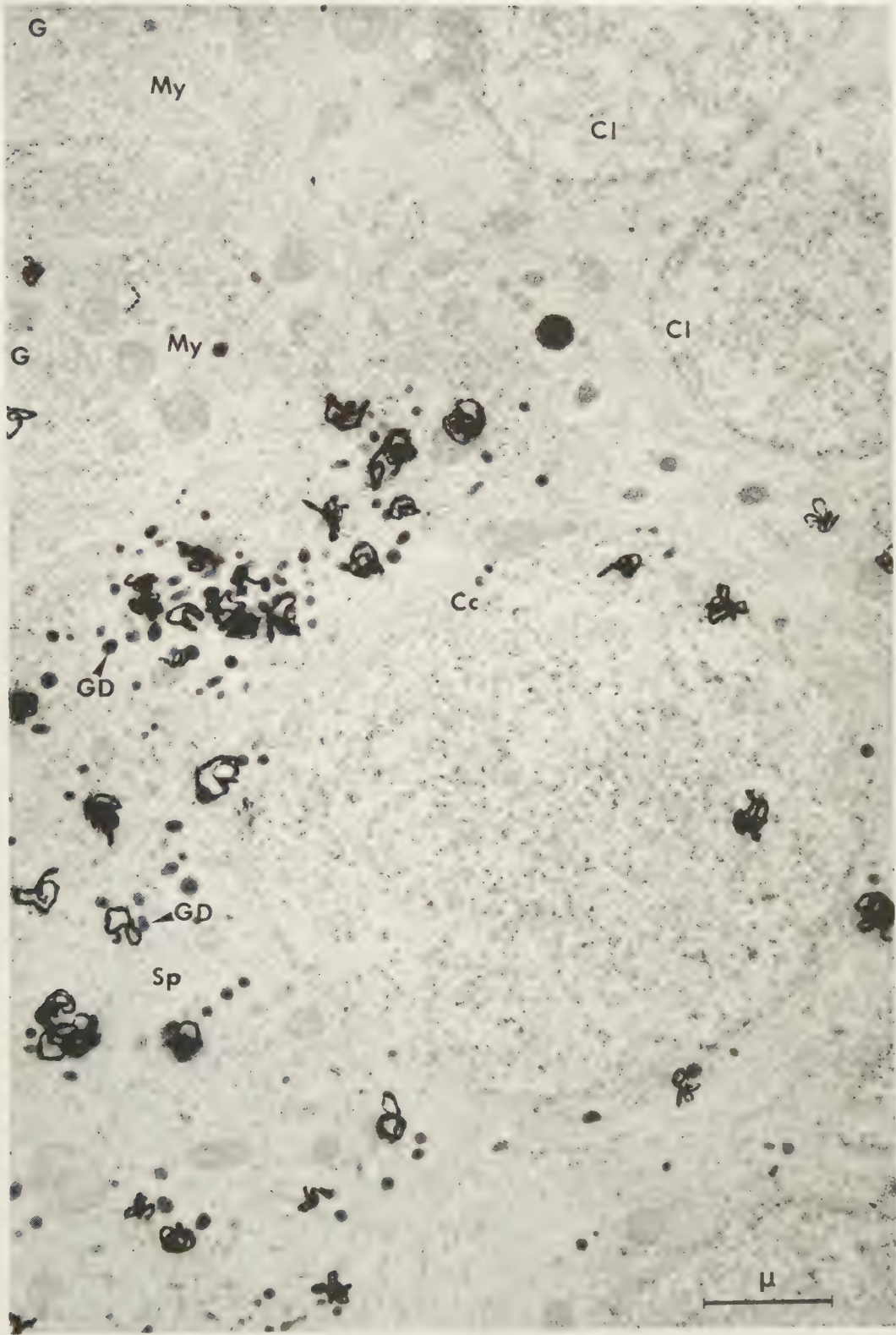


Planche XLV

Incorporation de 5-HTP-³H au stade 40 de l'embryogenèse.

Localisation cellulaire du marquage radioactif.

Fig. 1. - Les réactions radioautographiques spécifiques sont intenses au niveau des pédicules basaux (Pb) des photorécepteurs rudimentaires sécrétoires, riches en grains denses de sécrétion.

Fig. 2. - Grandissement plus élevé d'un pédicule basal de photorécepteur rudimentaire sécrétoire montrant la superposition des grains d'argent aux grains denses de sécrétion (GD).

Exposition 52 jours.

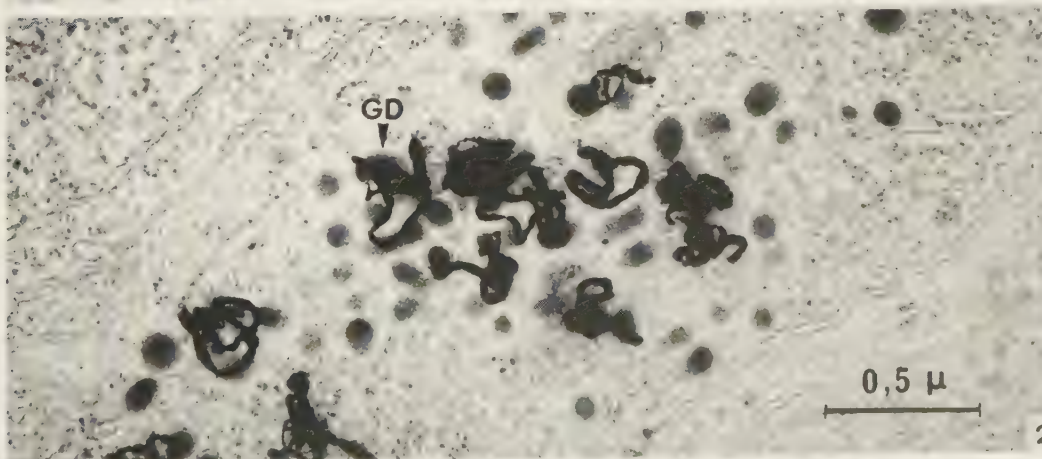


Planche XLVI

L'innervation pinéalo-pète
Incorporation de Noradrénaline-³H.

- Fig. 1. - Immature : les nombreuses terminaisons noradrénergiques périépiphysaires ont capté la noradrénaline exogène. Les réactions radioautographiques spécifiques (flèches) sont très intenses autour de l'épiphyse.
- Fig. 2. - Immature : radioautographie colorée au bleu de toluidine montrant la contiguïté des terminaisons noradrénergiques (FN) et de la lamelle basale de l'épiphyse.
- Fig. 3. - Stade 40 : les terminaisons noradrénergiques (flèches) marquées sont peu représentées à la périphérie de l'épiphyse.
- Fig. 4. - Stade 40 : radioautographie colorée au bleu de toluidine montrant la localisation des rares terminaisons noradrénergiques (flèches) dans les espaces pericapillaires (ep). Celles-ci restent assez éloignées de la lamelle basale (lb).

Exposition 21 jours.

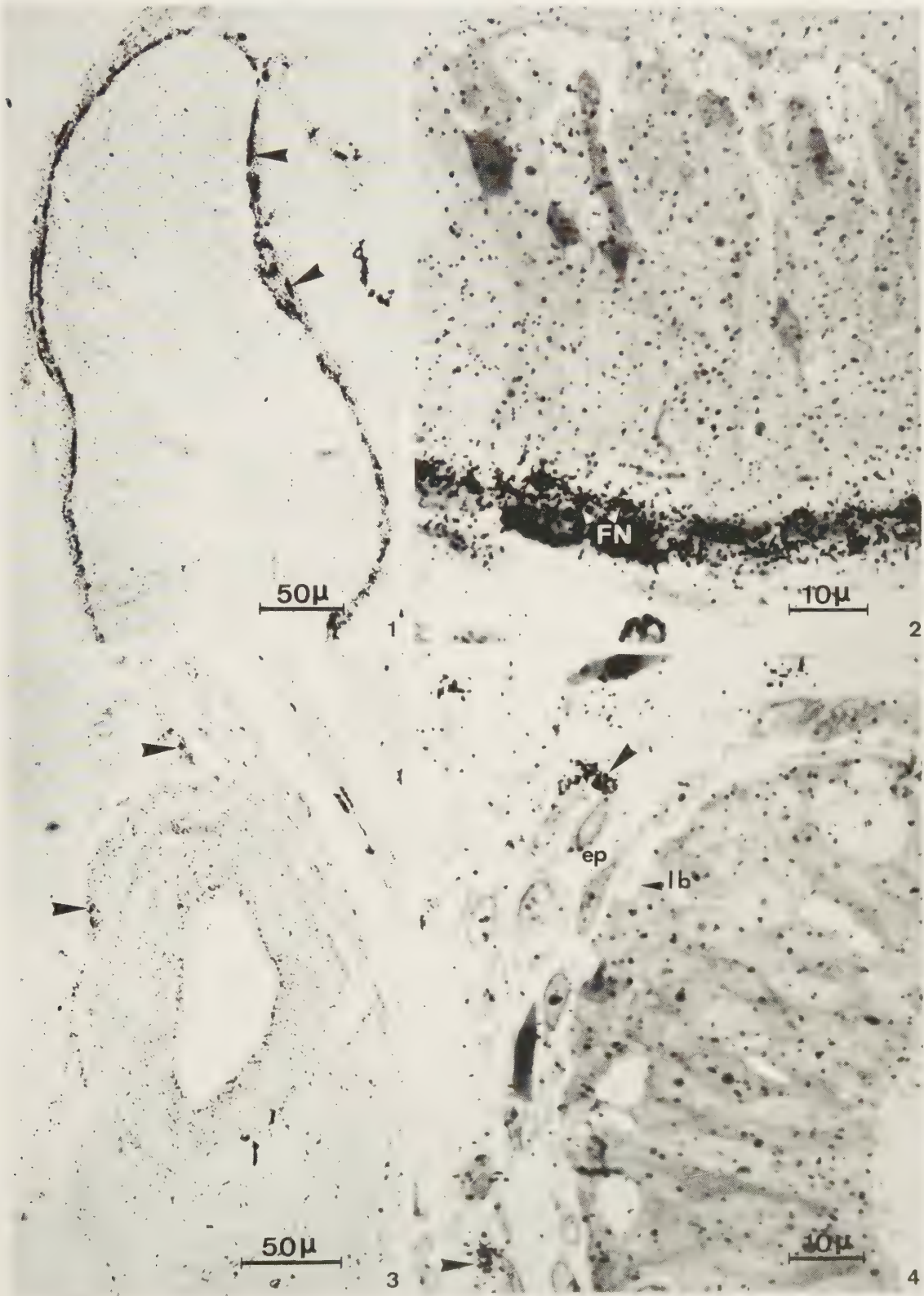


Planche XLVII

Différenciation de l'innervation pinéalopète noradrénergique.

- Fig. 1. - 3 jours après la naissance : les terminaisons noradrénergiques (FN) sont identifiées dans les espaces pericapillaires (ep), à proximité de la lamelle basale (lb) de l'épithélium épiphysaire. Elles renferment les trois types fondamentaux de vésicules (va, vb et vc).
- Fig. 2. - Stade 40 : fibres nerveuses (FN) assez éloignées de la lamelle basale (lb) de l'épithélium épiphysaire. L'absence des trois types caractéristiques de vésicules à leur niveau ne permet cependant pas de garantir leur nature catécholaminergique.
- Fig. 3. - Stade 40 : fort grandissement d'une terminaison noradrénergique, localisée dans les espaces pericapillaires et dans laquelle on reconnaît trois types de vésicules (va, vb et vc).

